

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA – FMVZ
DEPARTAMENTO DE CIRURGIA VETERINÁRIA E REPRODUÇÃO ANIMAL

**TESTE DE AÇÚCAR ORAL EM JUMENTOS DAS RAÇAS PÊGA
E NORDESTINA**

DANIELA BORTOLI BECEGATTO

Botucatu - São Paulo
Abril, 2022

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA – FMVZ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIRURGIA VETERINÁRIA E REPRODUÇÃO ANIMAL

**TESTE DE AÇÚCAR ORAL EM JUMENTOS DAS RAÇAS PÊGA E
NORDESTINA**

DANIELA BORTOLI BECEGATTO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Animal como pré-requisito para obtenção de título de Doutor à Banca Examinadora da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Campus Botucatu.
Orientador: Prof. Dr. Marcos Jun Watanabe

Botucatu – SP
Abril / 2022

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Becegatto, Daniela Bortoli.

Teste de açúcar oral em jumentos das raças Pêga e
Nordestina / Daniela Bortoli Becegatto. - Botucatu, 2022

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia

Orientador: Marcos Jun Watanabe

Capes: 50501070

1. Asinino. 2. Síndrome metabólica. 2. Controle
glicêmico. 4. Índice glicêmico. 5. Insulina.

Palavras-chave: Asininos; Desregulação da insulina ;
Síndrome metabólica asinina; Testes dinâmicos.

Nome do Autor: Daniela Bortoli Becegatto

Título: Teste de açúcar oral em jumentos das raças Pêga e Nordestina

Comissão examinadora

Prof. Dr. Marcos Jun Watanabe

Presidente da banca e Orientador

Departamento Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal

FMVZ – UNESP – Botucatu

Prof. Dr. Carlos Alberto Hussni

Membro da Banca

Departamento Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal

FMVZ – UNESP – Botucatu

Prof^a. Dr. Ana Liz Garcia Alves

Membro da Banca

Departamento Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal

FMVZ – UNESP – Botucatu

Prof. Dr. Rodrigo Romero Corrêa

Membro da Banca

Departamento de Cirurgia Veterinária

FMVZ - USP

Prof. Dr. Augusto José Savioli de Almeida Sampaio

Membro da Banca

Departamento de Clínicas Veterinárias

UEL - LONDRINA

Data da Defesa: 29 de abril de 2022.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todos que torceram e me incentivaram em mais esta etapa, em especial aos meus pais Osvaldo e Rita, meu irmão Samuel e minha avó Geni.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus pela oportunidade de concluir mais esta etapa que sempre foi um objetivo em minha vida profissional, por toda a proteção e pelas pessoas que colocou em meu caminho.

À minha família, em especial aos meus pais Osvaldo e Rita, que são meus exemplos e sempre estiveram ao meu lado dando todo o suporte que precisei, ao meu irmão Samuel, que sempre me incentivou a fazer pós-graduação e é um exemplo de pessoa e profissional dentro da medicina veterinária, à minha avó Geni, por todo o apoio e carinho durante toda minha formação, e a todos meus familiares que de alguma forma torceram e incentivaram para que concluísse esta etapa.

Ao meu orientador Prof. Marcos Jun Watanabe, por acreditar em mim e dar a oportunidade de executarmos este trabalho juntos, contribuindo com tantos ensinamentos, compreendendo as dificuldades e sendo um exemplo profissional e pessoal pela empatia, cuidado e profissionalismo.

Aos demais professores da UNESP – Botucatu, por todos os ensinamentos e oportunidades, em especial aos professores participantes da banca pela contribuição com o trabalho. À FMVZ - UNESP – Botucatu e ao Programa de Biotecnologia Animal, seus funcionários e todos auxiliaram e deram suporte quando precisei. Ao laboratório VidaVet pela realização das análises de insulina.

Ao Centro Universitário Filadélfia – UniFil, e Centro de Melhoramento Genético (CMG - UniFil), por permitir que realizasse parte do trabalho em suas instalações, meu agradecimento a todos os funcionários e profissionais que de alguma forma contribuíram com o desenvolvimento do trabalho, e aos meus colegas docentes e alunos da instituição que se tornaram amigos que incentivaram, auxiliaram, torceram e estavam comigo nos momentos de dificuldade.

Ao meu namorado Nelson Henrique, por ter aparecido no meio deste processo e ser um dos meus maiores incentivadores para a conclusão, sempre compreensivo e me dando toda a força que precisava seja qual fosse a dificuldade, e à sua família, Carmen, Nelson, Dani e Neto, por me acolherem e torcerem sempre por mim.

Aos meus amigos, muitos foram os que estiveram comigo, alguns que já estão comigo há muito tempo e outros que apareceram durante a caminhada, e cada um de alguma forma me ajudou seja no desenvolvimento do trabalho ou me incentivando a seguir em frente e tornando essa caminhada mais leve, meu muito obrigada a cada um, em especial meu agradecimento à Gabriela Bregadioli, José Guilherme Marcondes, Felipe, Natália, Paula, Gustavo Rosa, Gustavo Romero, Vitória, Larissa Tonelli, Kamila e João Felipe.

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

A todos que de alguma forma contribuíram para que a conclusão deste trabalho se tornasse possível, meu muito obrigada!

BECEGATTO, DANIELA. B. **Teste de açúcar oral em jumentos das raças Pêga e Nordestina**. Botucatu, 2022. 62p Tese (Doutorado em Biotecnologia Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP.

RESUMO

Asininos podem ser acometidos por alterações endócrinas e metabólicas, entre elas a síndrome metabólica asinina (SMA). Neste sentido, o objetivo deste estudo foi avaliar a resposta glicêmica e insulinêmica de asininos ao teste de açúcar oral (TAO) e a relação da glicemia e insulinemia basal com o escore de condição corporal (ECC) em jumentos das raças Nordestina e Pêga. Foram utilizados 20 animais, 10 fêmeas da raça Nordestina (G1) e 10 da raça Pêga (G2). Previamente à execução do teste, foram realizados exame físico, mensuração do peso, avaliação quanto ao ECC e escore de crista de pescoço (ECP). Para a realização do TAO, foi utilizado xarope de milho na dose de 0,15 ml/kg via oral e amostras de sangue venoso foram colhidas antes, e após 5, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 120, 150, 180, 210 e 240 min para a determinação da glicemia e 5, 15, 45, 60, 75, 90, 120, 150 min para a insulinemia. Os resultados demonstraram diferença entre as raças na resposta glicêmica, apresentando diferença estatística com o momento basal, os momentos de pico foram variáveis, sendo que a maior frequência foi aos 45, 60, 75 min. Com relação à insulina não houve diferença estatística entre as raças após a administração do xarope, para os valores de insulina a média basal foi de $5,02 \pm 2,09$ μ UI/ml para a raça Nordestina e $5,4 \pm 2,95$ μ UI/ml para a raça Pêga. Nas avaliações morfométricas, foi encontrada diferença na média de peso, no ECC e ECP, o ECC da raça Nordestina teve média de $4,3 \pm 1,05$, para a raça Pêga a média foi de $5,6 \pm 1,64$. Os resultados demonstraram correlação positiva entre glicose e insulina, o que suporta o uso do TAO na avaliação da relação entre glicose e insulina, e correlação positiva entre ECC e insulina, demonstrando a importância do monitoramento de animais com alto ECC, foi possível observar que fatores relacionados à espécie, raça, escore corporal e fatores ambientais devem ser levados em consideração ao se avaliar a resposta a testes dinâmicos.

Palavras-chave: asininos; desregulação da insulina; síndrome metabólica asinina; testes dinâmicos.

BECEGATTO, D. B. **Oral sugar test in Pêga and Nordestina donkeys.** Botucatu, 2022. 62p. Tese (Doutorado em Biotecnologia Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP.

ABSTRACT

Donkeys can be affected by endocrine and metabolic disorders, including donkey metabolic syndrome (DMS). The aim of this study was to evaluate the glycemic and insulinemic response of donkeys to the oral sugar test (OST) and the relationship between glycemia and basal insulinemia with the body condition score (BCS) in Nordestina and Pêga donkeys. Twenty animals were evaluated, 10 females of the Nordestina breed (G1) and 10 of the Pêga breed (G2). Physical exams, body weight, evaluation of body condition score (BCS) and neck score (NS) were performed before de OST. To perform the OST, corn syrup was used (0.15mL/kg) orally, venous blood samples were collected before and after 5, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 120, 150, 180, 210 and 240 for glucose assessment and 5, 15, 45, 60, 75, 90, 120, 150 for insulin measurement. Results showed differences between breeds in the glycemic response, showing a statistical difference with the baseline moment, the peak moments were variable, the highest frequency was at 45, 60, 75 minutes. Considering insulin, there was no statistical difference between breeds after administration of the syrup, for insulin values the basal mean was 5.02 ± 2.09 μ UI/ml for the Nordestina donkey and 5.4 ± 2.95 μ UI/ml for the Pega. In the morphometric evaluations, a difference was found in the mean weight, in the BCS and NS, the Nordestina donkey BCS had a mean of 4.3 ± 1.05 , for Pêga donkey the mean was 5.6 ± 1.64 . The mean for NS was 1.7 ± 0.82 for Nordestina and 2.1 ± 0.73 for Pêga. The results showed a positive correlation between glucose and insulin, which supports the use of TAO in the assessment of the glucose and insulin dynamics, and a positive correlation between ECC and insulin, demonstrating the relevance of monitoring animals with high ECC, it was possible to observe that factors related to species, race, body score and environmental factors should be taken into account when evaluating the response to dynamic tests.

Keywords: donkeys; insulin dysregulation; donkey metabolic syndrome; dynamic tests.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Gráfico de caixas da glicose (mg/dl) mostrando comparações temporais de intragrupo (T0 versus T15, T30, T45, T60, T75, T90, T150 e T240) e as intergrupo em cada momento (Nordestina versus Pêga).	39
Figura 2 Gráfico de caixas da insulina (μ UI/ml) mostrando comparações temporais de intragrupo (T0 versus T45, T90 e T150) e as intergrupo em cada momento (Nordestina versus Pêga).....	40
Figura 3 -Gráfico de dispersão entre insulina e escore de condição corporal.	41
Figura 4 - Gráfico de dispersão entre glicose e insulina 0, 45, 90 e 150 min após a administração do xarope.	41

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

cm	Centímetro
DI	Desregulação da insulina
dl	decilitro
ECP	Escore de crista de pescoço
ECC	Escore de condição corporal
g	Gramas
G1	Grupo 1
G2	Grupo 2
HDL	Lipoproteínas de alta densidade
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
kg	Quilogramas
LDL	Lipoproteínas de baixa densidade
M0	Momento 0
mg	Miligramas
ml	Mililitros
RI	Resistência à insulina
SM	Síndrome Metabólica
SMA	Síndrome metabólica asinina
SME	Síndrome metabólica equina
T0	Tempo 0
T15	15 minutos após a administração do xarope
T150	150 minutos após a administração do xarope
T240	240 minutos após a administração do xarope
T30	30 minutos após a administração do xarope
T45	45 minutos após a administração do xarope
T60	60 minutos após a administração do xarope
T75	75 minutos após a administração do xarope
T90	90 minutos após a administração do xarope
TAO	Teste de açúcar oral
TGO	Teste de glicose oral
VO	Via oral

SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO 1	11
1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	11
2. REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1. Alterações metabólicas em asininos	13
2.1.1. Metabolismo da Glicose.....	16
2.1.2. Desregulação da Insulina (DI).....	17
2.1.1. Avaliação da obesidade	19
2.1.2. Teste de Açúcar Oral (TAO)	20
3. OBJETIVOS	22
4. REFERÊNCIAS.....	23
CAPÍTULO 2	29
ARTIGO CIENTÍFICO	29
APÊNDICE A - METODOLOGIA TESTE DE AÇÚCAR ORAL E COLHEITA DE AMOSTRAS.....	57

CAPÍTULO 1

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A equideocultura vem apresentando grande crescimento nos últimos anos, uma vez que os animais que em períodos anteriores eram mais utilizados para o trabalho, atualmente estão envolvidos em atividades esportivas e lazer. Esta mudança da função impactou a movimentação financeira pelo aumento na utilização de rações, medicamentos e acessórios, além do maior número de eventos relacionados a esses animais, gerando no ano de 2015, uma renda total de 16,15 bilhões de reais (LIMA; CINTRA, 2015). A crescente participação dos equídeos em nosso meio gera a necessidade do desenvolvimento de pesquisas com o objetivo de aprimorar o entendimento acerca das enfermidades que os acometem.

Segundo o censo agropecuário do IBGE (2017), o rebanho asinino do país conta com 376.874 cabeças, grande parte concentrada na região nordeste. A conhecida resistência da espécie a condições desfavoráveis como climas quentes e escassez de alimentos, assim como sua rusticidade são fatores que contribuem para o uso destes animais principalmente para o trabalho, seja como meio de transporte pessoal e/ou de insumos, e em atividades relacionadas a agricultura familiar (STARKEY & STARKEY, 2000, MARQUES et al., 2013).

A popularidade dos asininos está cada vez maior, por exercerem função tanto para montaria como para tração, em muitas regiões, além de atividades agropecuárias também são usados para recreação, ou como um hobby, em atividades como equoterapia e *trekking* (KUGLER; GRUNENFELDER; BROXHAM, 2008, PESSOA et al., 2014).

Os estudos sobre as enfermidades que acometem asininos são escassos, sendo raras as publicações científicas (PESSOA et al., 2014). Levando em consideração o tamanho do rebanho, as particularidades e o crescimento do interesse pela espécie, a realização de estudos se justifica e se torna importante, possibilitando melhorar o entendimento e o desenvolvimento de testes diagnósticos específicos (MENDOZA; TORIBIO; PEREZ-ECIJA, 2018).

Asininos podem ser acometidos por enfermidades metabólicas, e estudos demonstram diferenças entre as espécies equina e asinina. O termo síndrome metabólica equina (SME) foi introduzido por Johnson (2002) relacionando a obesidade, resistência à insulina e a ocorrência de laminite em equinos. Semelhantemente, o termo síndrome metabólica asinina (SMA) é utilizado para jumentos e muares para designar essas mesmas alterações, porém, é válido lembrar que estes sinais podem ser observados independentemente, não estando relacionados com a SMA (MENDOZA; TORIBIO; PEREZ-ECIJA, 2018).

Com o objetivo de auxiliar o entendimento da SMA e promover testes específicos para os asininos que auxiliem no seu diagnóstico, este estudo visou avaliar a curva glicêmica e insulinêmica comparando as raças Nordestina e Pêga, utilizando o teste de açúcar oral, já estabelecido para equinos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

O setor da equideocultura gerou uma renda em torno de 16,5 bilhões de reais em 2015, considerando todo o Complexo do Agronegócio do Cavalo (LIMA; CINTRA, 2016).

A alimentação de equinos com quantidades excessivas de grãos de alto teor energético, é uma prática comumente observada. Tal prática costuma cursar com o aparecimento da obesidade, principalmente devido aos gastos energéticos leves a moderados com a atividade física (JOHNSON, 2002).

Os asininos são animais “econômicos”, ou seja, possuem baixo consumo de energia, além de possuir maior capacidade de digestibilidade quando comparados à pôneis (PEARSON; MERRITT, 1991), e demanda mais baixa de consumo de matéria seca e energia digerível do que os equinos (WOOD, 2010), portando, dietas ricas em calorias e concentrado são desnecessárias a não ser que o animal esteja realizando um trabalho intenso (MENDOZA; TORIBIO; PEREZ-ECIJA, 2018).

A alimentação com forragens de rápido crescimento aumenta a ingestão de energia, induz à obesidade e aumenta o consumo de carboidratos solúveis em água, como resultado ocorre o aumento das concentrações de insulina em repouso e como consequência, ocorre uma alteração na sensibilidade à insulina e produção

pancreática, de modo que os equinos submetidos a este tipo de alimentação estão predispostos à laminite (CARTER et al., 2009).

A obesidade está entre os fatores que predis põem a doenças metabólicas, incluindo a SMA e SME. Algumas raças são mais propensas a apresentar a SME, principalmente pôneis, a SME também já foi observada em animais da raça Quarto de Milha, Crioula, entre outras (JOHNSON et al., 2010 CANTERELLI et al., 2018). Em asininos a obesidade é comum, devido à sua eficiência na digestão e no baixo requerimento de energia (MENDOZA; TORIBIO; PEREZ-ECIJA, 2018). Outras características relacionadas ao fenótipo de indivíduos afetados pela SME incluem a resistência à insulina e a predisposição à laminite (FRANK et al., 2010).

2.1. Alterações metabólicas em asininos

Alterações metabólicas e endócrinas são comuns em asininos, suas características relacionadas à eficiência no armazenamento e mobilização de energia torna a espécie mais predisposta ao desenvolvimento de hiperlipemia, obesidade, disfunção da *pars* intermédia da hipófise e síndrome metabólica (MENDOZA; TORIBIO; PEREZ-ECIJA, 2018).

Além de algumas características semelhantes, é importante ressaltar que doenças endócrinas podem ocorrer de forma simultânea, cada uma com uma apresentação singular, isso indica a necessidade de uma abordagem holística no que tange o diagnóstico de doenças endócrinas incorporando histórico, sinais clínicos e resultados de testes laboratoriais (MCFARLANE, 2019).

A síndrome metabólica (SM) é uma alteração já diagnosticada e discutida em humanos há muitos anos, observando-se muitas pesquisas nas últimas décadas, além da descrição de outras síndromes com aspectos semelhantes que apontam alterações metabólicas (SANSON & GARBER, 2014). Entre os distúrbios, são citados a intolerância à glicose, hiperinsulinemia, resistência à insulina, hipertrigliceridemia, hipercortisolismo, redução do HDL e aumento do LDL, fatores que também são associados ao ganho de peso, idade e doenças cardiovasculares e diabetes (FULOP; TESSIER; CARPENTIER, 2006, HAN & LEAN, 2015, KUMARI; KUMAR; KANT, 2019). Em humanos, a causa subjacente ainda é incerta, porém a resistência à insulina e obesidade, associadas à mediadores inflamatórios contribuem com a doença (FULOP; TESSIER; CARPENTIER, 2006).

Em equídeos, o termo síndrome metabólica equina (SME) foi introduzido por Johnson et al. (2002), com características semelhantes, porém existem diferenças significativas, como por exemplo o aumento do risco de acometimento de vasos coronários em humanos e do tecido laminar em equinos, e, embora não totalmente comparáveis, existem semelhanças nos processos metabólicos, bioquímicos e inflamatórios (ERTELT, 2014).

Em equinos, foi demonstrado que a ocorrência da SME parece ter uma relação com a raça (FRANK et al., 2010). Há evidências da associação da raça com diferentes níveis da sensibilidade à insulina (BRÖJER, et al., 2013). Embora os mecanismos fisiopatológicos ainda não tenham sido totalmente compreendidos, estudos realizados em equinos, e a comparação de equinos com pôneis, sugerem a influência de fatores genéticos, ambientais, e apontam a desregulação da insulina, obesidade e acúmulo de adiposidade regional, hipertriglicéidemia e laminite como fatores associados (JACOB et al., 2018, MCCUE; GEOR; SCHULTZ, 2015, DURHAM et al., 2019, HARRIS; BAMFORD; BAILEY, 2020).

Proporcionalmente, a ocorrência da SM parece ser maior em asininos do que em equinos, estando presente principalmente em países desenvolvidos, onde a disponibilidade de alimento para esses animais é maior e consequente desenvolvimento de obesidade. Diferenças relacionadas à predisposição de alguma raça ainda não foram demonstradas em jumentos e dados relacionados à epidemiologia, patogenia e avaliações detalhadas são escassos, mas é possível pressupor que os princípios da SME podem nortear o entendimento da SMA (MENDOZA; TORIBIO; PEREZ-ECIJA, 2019).

Du Toit e Trawford (2010) e Mendoza et al. (2015a) avaliaram a relação glicose/insulina em asininos observaram variações, que podem estar relacionadas a diferenças entre raças e manejo alimentar e ambiental.

Para o diagnóstico devem ser considerados o exame físico do paciente, as avaliações radiográficas e os exames laboratoriais. No exame físico é importante avaliar a presença de adiposidade regional e escore de condição corporal (FRANK et al., 2010). Em relação aos exames complementares, o teste mais simples consiste em determinar a concentração plasmática de insulina, porém, deve-se ter cautela ao interpretar esse exame, pois as concentrações de insulina podem ser influenciadas,

por exemplo, pelas concentrações de cortisol circulante, pela alimentação e estado fisiológico do animal, sendo as concentrações de insulina e glicose do indivíduo em jejum relativamente constantes, fornecendo informações sobre a sensibilidade à insulina (JOHNSON et al., 2010).

Há diversos testes para avaliar a resistência à insulina, os testes de triagem atuais focam na mensuração das concentrações de insulina e glicose em amostras únicas de sangue. Para a avaliação adequada da sensibilidade à insulina são necessários testes dinâmicos, pois a insensibilidade do tecido à insulina só pode ser revelada quando o controle glicêmico é desafiado (FRANK et al., 2010; FIRSHMAN; VALBERG, 2007).

Testes dinâmicos como teste combinado de glicose-insulina (EILER et al., 2005, BRÖJER et al., 2013), teste de glicose ou açúcar oral (SCHUVER et al., 2014, SMITH; HARRIS; MENZIES-GOW, 2016, CANTARELLI et al., 2018) entre outros testes para o diagnóstico da desregulação da insulina já foram demonstrados em equinos (DUNBAR et al., 2016). Em asininos testes dinâmicos como teste combinado de glicose e insulina, teste de tolerância à glicose intravenosa e mais recentemente o teste de açúcar oral foram desenvolvidos, porém apenas em animais saudáveis (MENDOZA et al., 2015b, MENDOZA et al., 2021a, MENDOZA et al., 2021b). Ainda não foi estabelecido um teste ideal para o diagnóstico da resistência à insulina (FIRSHMAN; VALBERG, 2007), portanto o desenvolvimento de um padrão de testes se torna importante para estudos futuros (FRANK et al., 2010).

A dislipidemia geralmente está presente em equinos com SME, sendo as concentrações de triglicerídeos, leptina e/ou adiponectina também utilizadas como auxílio no diagnóstico da doença (FRANK et al., 2006, FRANK, 2011). Para asininos, os valores destes parâmetros ainda são obscuros (MENDOZA; TORIBIO; PEREZ-ECIJA, 2019, MENDOZA et al., 2021a).

O diagnóstico de alterações metabólicas e endócrinas em jumentos como a disfunção da *pars* pituitária, síndrome metabólica asinina deve se basear em informações específicas sobre a espécie, protocolos específicos não estão disponíveis e é preciso ter cautela ao extrapolar dados relacionados à equinos podem levar a equívocos no diagnóstico (MENDOZA; TORIBIO; PEREZ-ECIJA, 2018).

2.1.1. Metabolismo da Glicose

O organismo necessita de fornecimento constante de energia para o desempenho de suas funções, essa energia pode ser obtida por meio da dieta e armazenada para posterior utilização (GOFF, 2017). Para garantir esse suprimento e manter a homeostase metabólica, os mamíferos desenvolveram mecanismos fisiológicos para conservar a glicemia dentro de um intervalo normal (VERBERNE; SABETGHADAM; KORIM, 2014). Em equídeos, insulina, glucagon, grelina, hormônio do crescimento, leptina, adiponectina, hormônios da tireoide e fator de crescimento semelhante à insulina, estão entre os principais fatores de regulação do metabolismo energético (BARSNICK & TORIBIO, 2011).

O controle da glicemia depende em grande parte da liberação da insulina e do glucagon. A liberação de insulina é estimulada principalmente pela elevação da glicemia, este hormônio é produzido no pâncreas pelas células β das ilhotas de Langerhans e facilita a captação da glicose nos músculos, tecido adiposo e células α do pâncreas, visando manter a normoglicemia, estimulando a captação de glicose, a glicogênese, síntese de ácidos graxos e a redução da produção de glicose, diminuindo a lipólise, proteinólise e gliconeogênese. Por outro lado, sua secreção é interrompida quando a concentração de glicose sanguínea atinge valores normais (BARSNICK E TORIBIO, 2011, GOFF, 2017).

Já o glucagon, é um hormônio secretado pelas células α das ilhotas de Langerhans, que induz um efeito catabólico, estimula a glicogenólise e lipólise e a gliconeogênese, que resulta na liberação de glicose no sangue, sendo sua secreção fundamental para a regulação da homeostasia da glicose (QUESADA et al., 2008).

Em se tratando de equinos e asininos, já foi demonstrado que existem diferenças relacionadas ao metabolismo energético, além da influência de características como, idade, sexo e condição corporal sobre funções metabólicas e endócrinas (MENDOZA et al., 2015a).

O conhecimento a respeito da função destes hormônios na regulação da glicose, bem como os efeitos causados pelas alterações relacionadas a eles, são estudados em humanos e animais como auxílio no diagnóstico de diversas enfermidades metabólicas (FRANK et al., 2006, MCLEAN et al, 2009, PRITCHARD et al., 2019).

2.1.2. Desregulação da Insulina (DI)

A desregulação da insulina (DI) é um termo utilizado para designar alterações na relação entre as concentrações plasmáticas de glicose, insulina e lipídeos (DURHAM et al., 2019), pode incluir a hiperinsulinemia basal, ou pós-prandial (pelo TAO ou após alimentação) ou a resistência dos tecidos à insulina ou outros mecanismos ainda não esclarecidos, e possuem um papel importante na patogenia da síndrome metabólica (FRANK; TADROS, 2014, DUNBAR et al., 2016, FRANK et al., 2020).

A resistência à insulina (RI) corresponde à falha dos tecidos em responder a esse hormônio, como consequência ocorre comprometimento na absorção de glicose, aumento da síntese de glicose no fígado via gliconeogênese e aumento da lipólise (FRANK; TADROS, 2014).

A hiperinsulinemia, pode ser uma resposta compensatória à resistência à insulina, porém essa resposta devido ao repouso, ou pós-prandial também pode ocorrer (JACOB et al., 2018). Estudos em equinos demonstram que a hiperinsulinemia pode estar presente, mesmo sem a presença da RI, devido a uma resposta excessiva da insulina pela alimentação com carboidratos resultando em hiperinsulinemia transitória (DE LAAT; MCGREE; SILLANCE, 2016).

A RI é caracterizada por hiperinsulinemia ou respostas anormais à desafios utilizando glicose ou insulina com elevadas taxas de glicose e triglicerídeos, já o fator relacionado à laminite, ocorre em casos de laminite clínica ou subclínica sem a observação de causas como a sobrecarga por grãos, cólica ou outros processos inflamatórios (FRANK et al., 2010). Assim como em equinos, é evidente a relação entre a obesidade, desregulação da insulina e laminite em jumentos, estudos anteriores associam níveis de insulina acima de 20 μ UI / ml com a laminite (DU TOIT; TRAWFORD, 2010).

A importância de compreender a relação entre a desregulação da insulina com a laminite tem avanços significativos, porém a capacidade de compreender na íntegra os mecanismos patogênicos, ainda é limitada (DE LAAT et al., 2010). À medida que características da desregulação de insulina são reunidas ocorrem mudanças nas interpretações de testes já desenvolvidos e o desenvolvimento de novos para auxiliar no diagnóstico (BERTIN; DE LAAT, 2017).

O desenvolvimento de testes para a avaliação da desregulação da insulina, tanto em humanos quanto em modelos animais, é importante para que mecanismos fisiopatológicos, epidemiologia e resultados de intervenções terapêuticas sejam compreendidos.

O método clamp hiperinsulinêmico-euglicêmico é o teste padrão ouro para avaliar a RI, porém, devido às limitações como custos, necessidade de técnicos laboratoriais experientes, demanda de tempo e trabalho, possui limitações para aplicação na rotina. O desenvolvimento de testes dinâmicos para estabelecer informações sobre a secreção de insulina e sua ação também são úteis, uma vez que testes padrão ouro apresentam pouca praticidade para uso a campo (MUNIYAPPA et al., 2008, DUNBAR et al., 2016).

A avaliação do desempenho de testes para avaliar a DI em equinos adultos foi realizada por Dunbar et al. (2016), comparando concentrações basais de insulina, teste de glicose oral (TGO), teste combinado de glicose-insulina e teste de tolerância à glicose intravenosa modificada por insulina com amostragem frequente avaliando a concordância entre os testes, concluindo que os testes podem produzir resultados variáveis, mesmo em um mesmo grupo de animais.

Estudos utilizando diferentes testes dinâmicos para mensurar a DI foram demonstrados em equinos (HORN; BERTIN, 2019, OLLEY et al., 2019, RIBEIRO, 2017) e asininos (McLEAN et al., 2009, MENDOZA et al., 2015a, PITCHARD et al., 2019, MENDOZA et al., 2021a), estes e outros estudos demonstram diferenças entre as espécies (MENDOZA et al., 2013).

A utilização de testes dinâmicos em asininos deve ser baseada em protocolos específicos, uma vez que testes dinâmicos como o teste combinado de glicose-insulina, teste de tolerância a glicose intravenosa e teste oral de tolerância a glicose mostraram resultados diferentes em jumentos e equinos. Estudos demonstrando valores para concentrações de glicose em asininos saudáveis foram descritos recentemente (MENDOZA et al., 2015a, MENDOZA et al., 2018).

Estes níveis de insulina podem ser considerados para o diagnóstico da DI na espécie, levando em consideração variabilidades inter-ensaio e laboratoriais, baseando esse diagnóstico na determinação de concentrações basais de glicose e insulina e jejum e realização de testes dinâmicos (MENDOZA; TORIBIO; PEREZ-ECIJA, 2018).

A obesidade e o aumento da adiposidade regional é outro fator comumente associado à síndrome metabólica e, quando presentes, podem agravar a DI. Animais afetados geralmente apresentam escore de condição corporal (ECC) alto e aumento da adiposidade regional na crista do pescoço (FRANK, 2011, MCCUE, GEOR, SCHULTZ, 2015). Jumentos com síndrome metabólica também apresentam como sinais principais obesidade e laminite, embora nem todos os animais obesos apresentarão a doença e animais magros também podem apresentar (MENDOZA; TORIBIO; PEREZ-ECIJA, 2018, MENDOZA; TORIBIO; PEREZ-ECIJA, 2019).

2.1.1. Avaliação da obesidade

Estudos desenvolvidos em equinos avaliaram a relação da obesidade, desregulação da insulina (FRANK et al., 2006, VICK et al., 2007, PAZ et al., 2013, RIBEIRO, 2017). A avaliação do ECC como parte do diagnóstico da SMA, deve ser direcionada para a espécie, levando em consideração as diferenças existentes entre as espécies, tanto para a verificação do ECC, escore de cernelha e estimativa de peso, devem ser utilizados sistemas específicos já desenvolvidos (PEARSON & OUASSAT, 2000, MENDOZA et al., 2015a).

Pearson e Ouassat (2000), desenvolveram um sistema para avaliação de escore corporal para jumentos, com uma escala de 1 a 9, sendo 1 muito magro e 9 muito gordo (obeso), os principais pontos avaliados durante a mensuração, segundo os autores, são o pescoço, escápula, costelas, cernelha, processos espinhosos da coluna vertebral, tuberosidade ilíaca e isquiática e garupa.

A avaliação do escore de crista do pescoço, foi demonstrada por Mendoza et al. (2015a), em um sistema que vai de 0 a 4, a avaliação se baseia, na presença ou não de crista (visível ou apenas palpável), depósito de gordura e características do pescoço, sendo 0 a ausência de crista e pescoço fino, e 4, presença de crista espessada, pescoço espesso e arredondado.

Para determinação do peso corporal, são utilizadas medidas do comprimento do corpo (distância da tuberosidade isquiática até o a articulação úmero-rádio-ulnar) e o perímetro torácico (circundando tórax atrás dos membros torácicos), em que:

Peso (kg) = $[(\text{circunferência torácica}(\text{cm})^{2.12}) \times (\text{comprimento do corpo}(\text{cm})^{0.688}) \div 3801]$ ou utilizando um nomograma (PEARSON & OUASSAT, 2000).

Além disso, a mensuração de medidas corporais dos animais como altura da cernelha, comprimento do corpo, perímetro torácico e circunferência do pescoço, também podem auxiliar a correlacionar estes fatores com variáveis endócrinas (MENDOZA et al., 2015a).

A condição corporal, da mesma forma que outros parâmetros como idade e gênero, influenciam em uma série de fatores metabólicos e endócrinos (MENDOZA et al., 2015a). Como consequência do aumento da gordura, pode ocorrer o aumento de adipocinas, como leptina e adiponectina além de mediadores inflamatórios que podem influenciar no controle glicêmico, inflamação, e outras funções como cardiovascular e imunológica. A desregulação destes moduladores pode contribuir com o desenvolvimento de complicações como síndrome metabólica, diabetes tipo 2 e doenças cardiovasculares (RADIN; SHARKEY; HOLYCROSS, 2009). Em equinos, a associação entre obesidade, aumento de citocinas inflamatórias e sensibilidade a insulina também foi demonstrada (VICK et al., 2007).

Concentrações maiores de leptina e triglicerídeos foram maiores em jumentos com sobrepeso e correlacionadas ao escore de pescoço, circunferência de pescoço e índice de massa corpórea (MCLEAN et al., 2009, MENDOZA et al., 2015a).

No trabalho de Mendoza et al. (2015a), não foi encontrada associação entre insulina e escore de condição corporal, assim como não houve correlação entre mensurações corporais e adiponectina e grelina, como foram mensuradas apenas medidas subjetivas, a adiposidade visceral pode ter um papel importante na secreção de adiponectina em jumentos.

A tendência é que animais obesos tenham menor sensibilidade à insulina e o ECC pode influenciar nessa sensibilidade. Na avaliação de jumentos obesos, moderados e magros e o efeito do escore corporal sobre a dinâmica de glicose-insulina, foram encontrados níveis maiores de insulina basal e maior média de concentração de insulina em animais obesos (PRITCHARD et al., 2019).

Essas informações demonstram a importância da investigação a respeito do papel da obesidade na resposta inflamatória, na sensibilidade à insulina e no desenvolvimento da laminite para que seja possível estabelecer diretrizes sobre a susceptibilidade e prevenção das enfermidades relacionadas (VICK et al., 2007).

2.1.2. Teste de Açúcar Oral (TAO)

Os testes dinâmicos com administração de dextrose ou xarope de milho via oral, foram desenvolvidos pensando em se estabelecer um teste aplicável a campo. No teste de açúcar oral (TAO), o xarope de milho é administrado por via oral com o auxílio de uma seringa e em seguida são realizadas mensurações seriadas de glicose e insulina (SCHUVER et al., 2014). A composição do xarope (glicose, maltose, maltotriose e outros açúcares) fornece, em 1 ml, 1 g de carboidratos, para a realização do teste, a dose utilizada é de 0,15 ml/kg (FRANK, 2011). O xarope de milho possui a vantagem de ser palatável, facilmente adquirido e administrado (SCHUVER et al., 2014).

Em equinos, o teste já está bem estabelecido, estudos realizados comparando animais saudáveis e apresentando síndrome metabólica, realizando a administração de xarope de milho via oral em seguida colheitas de sangue seriadas nos momentos 0, 30, 60, 90 e 120 minutos após a administração do xarope, observaram uma correlação positiva entre o TAO e o teste de tolerância de glicose intravenosa, e diferenças significativas entre os grupos de animais (SHUVER et al., 2014). Outros estudos também demonstraram a execução do teste de glicose oral em diferentes raças de equinos, e comparações entre equinos e pôneis (LINDÅSE; NOSTELL; BRÖJER, 2016, CANTARELLI et al., 2018, RIBEIRO, 2017).

Modificações na dose utilizada no TAO utilizando xarope de milho, foram propostas para determinar os efeitos dessas variações. Jocelyn, Harris e Menzies-Gow (2018), avaliaram diferenças nos valores de glicose e insulina após a administração de 0,15ml/kg, 0,30ml/kg e 0,45ml/kg em oito pôneis, e concluíram que é um teste promissor, sugerindo a dose de 0,45ml/kg e pelo menos a avaliação da insulina em três pontos de amostragem para melhores resultados.

Lindåse, Nostell, Bröjer (2016), compararam grupos de equinos saudáveis com equinos que apresentavam SM utilizando a dose de 0,2ml/kg de xarope de milho, foram realizadas coletas imediatamente antes e 30, 60, 90, 120, 150 e 180 minutos após a administração, os autores concluíram que o teste é uma ferramenta prática, porém para a avaliação de sua precisão, mais estudos são necessários.

Para verificar as diferenças entre o TGO utilizando dextrose e o TAO com xarope de milho, um estudo utilizou oito pôneis e cinco equinos saudáveis, realizando coletas seriadas de sangue nos momentos 0, 30, 60, 75, 90, 120 e 180 minutos após a administração de 1g/kg de dextrose monohidratada ou 0,15ml/kg de xarope de milho e identificaram variações nos resultados dos testes na identificação da desregulação

da insulina, ressaltando a necessidade de mais estudos para estabelecer o teste mais adequado (SMITH; HARRIS E MENZIES-GOW, 2016).

Estudos de testes dinâmicos para asininos também já foram desenvolvidos, como testes de tolerância à glicose intravenosa, teste combinado de glicose e insulina e o teste de glicose oral utilizando dextrose (MENDOZA; TORIBIO; PEREZ-ECIJA, 2019), recentemente o teste de glicose oral utilizando xarope de milho foi reportado em comparação ao teste de glicose oral (MENDOZA et al., 2021b).

3. OBJETIVOS

Objetivo geral

O presente estudo tem por objetivo comparar a utilização do teste de açúcar oral (TAO), já estabelecido como método para auxiliar no diagnóstico da SME, entre duas raças distintas de asininos (Nordestina e Pêga).

Objetivos específicos

Avaliar a curva glicêmica e insulinêmica após a administração de xarope de milho via oral, comparando os resultados entre as duas raças.

Estabelecer relação entre os dois parâmetros metabólicos avaliados e o escore de condição corporal (ECC).

Avaliar a viabilidade do TAO em asininos no diagnóstico de alterações metabólicas.

4. REFERÊNCIAS

BARSNICK, R. J.; TORIBIO, R. E. Endocrinology of the Equine Neonate Energy Metabolism in Health and Critical Illness. **Veterinary Clinics of North America - Equine Practice**, v. 27, n. 1, p. 49–58, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2010.12.001>.

BERTIN, F. R.; DE LAAT, M. A. The diagnosis of equine insulin dysregulation. **Equine veterinary journal**, v. 49, n. 5, p. 570-576, 2017.

BRÖJER, J. et al. Repeatability of the combined glucose-insulin tolerance test and the effect of a stressor before testing in horses of 2 breeds. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 27, n. 6, p. 1543-1550, 2013.

CANTARELLI, C. et al. Evaluation of oral sugar test response for detection of equine metabolic syndrome in obese Crioulo horses. **Domestic animal endocrinology**, v. 63, p. 31-37, 2018.

CARTER, Rebecca A. et al. Prediction of incipient pasture-associated laminitis from hyperinsulinaemia, hyperleptinaemia and generalised and localised obesity in a cohort of ponies. **Equine veterinary journal**, v. 41, n. 2, p. 171-178, 2009.

DE LAAT, M. A.; MCGOWAN, C. M.; SILENCE, M. N.; POLLITT, Christopher C. Hyperinsulinemic laminitis. **Veterinary Clinics of North America - Equine Practice**, v. 26, n. 2, p. 257–264, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2010.04.003>.

DE LAAT, M. A.; MCGREE, J. M.; SILENCE, M. N. Equine hyperinsulinemia: Investigation of the enteroinsular axis during insulin dysregulation. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, v. 310, n. 1, p. E61–E72, 2015. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00362.2016>.

DUNBAR, L. K.; MIELNICKI, K. A.; DEMBEK, K. A.; TORIBIO, R. E.; BURNS, T. A. Evaluation of Four Diagnostic Tests for Insulin Dysregulation in Adult Light-Breed Horses. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 30, n. 3, p. 885–891, 2016. <https://doi.org/10.1111/jvim.13934>.

DURHAM, A. E.; FRANK, N.; MCGOWAN, C. M.; MENZIES-GOW, N. J.; ROELFSEMA, E.; VERVUERT, I.; FEIGE, K.; FEY, K. ECEIM consensus statement on equine metabolic syndrome. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, vol. 33, n. 2, p. 335–349, 2019. <https://doi.org/10.1111/jvim.15423>.

DU TOIT, N.; TRAWFORD, A. F. Determination of serum insulin and insulin resistance in clinically normal donkeys and donkeys with a history of laminitis (obese and non-obese). **Journal of Veterinary Internal Medicine**. American College of Veterinary Internal Medicine Forum; p. 779, 2010.

EILER, H.; FRANK, N.; ANDREWS, F. M.; OLIVER, J. W.; FECTEAU, K. A. Physiologic assessment of blood glucose homeostasis via combined intravenous glucose and insulin testing in horses. **American journal of veterinary research**, v. 66, n. 9, p. 1598-1604, 2005.

ERTELT, A.; BARTON, A.K.; SCHMITZ, R. R.; GEHLEN, H. Metabolic syndrome: is equine disease comparable to what we know in humans? **Endocrine Connections**, v. 3, n. 3, p. R81–R93, 2014. <https://doi.org/10.1530/ec-14-0038>.

FIRSHMAN, A. M.; VALBERG, S. J. Factors affecting clinical assessment of insulin sensitivity in horses. **Equine veterinary journal**, v. 39, n. 6, p. 567-575, 2007.

FRANK, N. et al. Physical characteristics, blood hormone concentrations, and plasma lipid concentrations in obese horses with insulin resistance. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 228, n. 9, p. 1383-1390, 2006.

FRANK, N. et al. Equine metabolic syndrome. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 24, n. 3, p. 467-475, 2010.

FRANK, N. Equine Metabolic Syndrome. **Veterinary Clinics of North America - Equine Practice**, v. 27, no. 1, p. 73–92, 2011. DOI 10.1016/j.cveq.2010.12.004. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cveq.2010.12.004>.

FRANK, N.; TADROS, E. M. Insulin dysregulation. **Equine Veterinary Journal**, v. 46, n. 1, p. 103–112, 2014. <https://doi.org/10.1111/evj.12169>.

FRANK, N., BAILEY, S., BERTIN, F. R., De LAAT, M. A., DURHAM, A. E., KRITCHEVSKY, J., & MENZIES-GOW, N. J. Recommendations for the diagnosis and treatment of equine metabolic syndrome (EMS). Equine Endocrinology Group, 2020.

FULOP, T.; TESSIER, D.; CARPENTIER, A. The metabolic syndrome. **Pathologie Biologie**, v. 54, n. 7, p. 375–386, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2006.07.002>.

GOFF, J. P. Distúrbios do Metabolismo de Carboidratos e Lipídeos. In: REECE, W. O. **Fisiologia dos animais domésticos**. 13 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. p.1245-1251.

HAN, T. S.; LEAN, M. E.J. Metabolic syndrome. **Medicine (United Kingdom)**, v. 43, n. 2, p. 80–87, 2015. DOI 10.1016/j.mpmed.2014.11.006. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mpmed.2014.11.006>.

HARRIS, P. A.; BAMFORD, N. J.; BAILEY, S. R. Equine metabolic syndrome: Evolution of understanding over two decades: A personal perspective. **Animal Production Science**, v. 60, n. 18, p. 2103–2110, 2020. <https://doi.org/10.1071/AN19386>.

HORN, R.; BERTIN, F. R. Evaluation of combined testing to simultaneously diagnose pituitary pars intermedia dysfunction and insulin dysregulation in horses. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 33, n. 5, p. 2249–2256, 2019. <https://doi.org/10.1111/jvim.15617>.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA . Censo Agropecuário de 2017. Rio de Janeiro: IBGE, 2017.

JACOB, S. I.; GEOR, R. J.; WEBER, P. S.D.; HARRIS, P. A.; MCCUE, M. E. Effect of age and dietary carbohydrate profiles on glucose and insulin dynamics in horses.

Equine Veterinary Journal, v. 50, n. 2, p. 249–254, 2018. <https://doi.org/10.1111/evj.12745>.

JACOB, S. I.; MURRAY, K. J.; RENDAHL, A. K.; GEOR, R. J.; SCHULTZ, N. E.; MCCUE, M. E. Metabolic perturbations in Welsh Ponies with insulin dysregulation, obesity, and laminitis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 32, n. 3, p. 1215–1233, 2018. <https://doi.org/10.1111/jvim.15095>.

JOCELYN, N. A.; HARRIS, P. A.; MENZIES-GOW, N. J. Effect of varying the dose of corn syrup on the insulin and glucose response to the oral sugar test. **Equine Veterinary Journal**, v. 50, n. 6, p. 836–841, 2018. <https://doi.org/10.1111/evj.12826>.

JOHNSON, P. J. The equine metabolic syndrome. Peripheral Cushing's syndrome. **Veterinary Clinics of North America - Equine Practice**, v. 18, n. 2, p. 271–293, 2002. [https://doi.org/10.1016/S0749-0739\(02\)00006-8](https://doi.org/10.1016/S0749-0739(02)00006-8).

JOHNSON, Philip J. et al. Laminitis and the equine metabolic syndrome. **Veterinary Clinics: Equine Practice**, v. 26, n. 2, p. 239–255, 2010.

KUGLER, W.; GRUNENFELDER, H.-P.; BROXHAM, E. Donkey breeds in Europe: Inventory, description, need for action, conservation: Report 2007/2008. **Monitoring Institute**, 2008.

KUMARI, R.; KUMAR, S.; KANT, R. An update on metabolic syndrome: Metabolic risk markers and adipokines in the development of metabolic syndrome. **Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews**, v. 13, n. 4, p. 2409–2417, 2019. DOI 10.1016/j.dsx.2019.06.005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2019.06.005>.

LIMA, RA de S.; CINTRA, A. G. Revisão do Estudo do Complexo do Agronegócio do Cavalo. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasília, v. 56, 2016.

LINDÅSE, S.; NOSTELL, K.; BRÖJER, J. A modified oral sugar test for evaluation of insulin and glucose dynamics in horses. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 58, n. 1, p. 55–63, 2016. <https://doi.org/10.1186/s13028-016-0246-z>.

MARQUES, D. D.; NÓBREGA NETO, P. I.; CARVALHO, K. S. Emprego da cola de cianoacrilato em feridas cutâneas de asininos. **Ciência Animal Brasileira**, v. 14, p. 75–80, 2013.

MCCUE, M. E.; GEOR, R. J.; SCHULTZ, Nichol. Equine metabolic syndrome: A complex disease influenced by genetics and the environment. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 35, n. 5, p. 367–375, 2015. DOI 10.1016/j.jevs.2015.03.004. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jevs.2015.03.004>.

MCFARLANE, Dianne. Diagnostic testing for equine endocrine diseases: confirmation versus confusion. **Veterinary Clinics: Equine Practice**, v. 35, n. 2, p. 327–338, 2019.

MCLEAN, A. K.; NIELSEN, B. D.; YOKOYAMA, M.; O'CONNOR-ROBISON, C. I.; HENGEMUEHLE, S.; WANG, W.; GEOR, R.; HARRIS, P.A. Insulin Resistance in Standard Donkeys (*Equus asinus*) of Three Body Conditions-Thin, Moderate, and Obese. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 29, n. 5, p. 406–407, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2009.04.106>.

MENDOZA, F. J.; PEREZ-ECIJA, R. A.; TORIBIO, R. E.; ESTEPA, J. C. Thyroid

hormone concentrations differ between donkeys and horses. **Equine Veterinary Journal**, v. 45, n. 2, p. 214–218, 2013. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.2012.00622.x>.

MENDOZA, F. J.; ESTEPA, J. C.; GONZALEZ-DE CARA, C. A.; AGUILERA-AGUILERA, R.; TORIBIO, R. E.; PEREZ-ECIJA, A. Energy-related parameters and their association with age, gender, and morphometric measurements in healthy donkeys. **Veterinary Journal**, v. 204, n. 2, p. 201–207, 2015a. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.03.004>.

MENDOZA, F. J.; AGUILERA-AGUILERA, R.; GONZALEZ-DE CARA, C. A.; TORIBIO, R. E.; ESTEPA, J. C.; PEREZ-ECIJA, A. Characterization of the intravenous glucose tolerance test and the combined glucose-insulin test in donkeys. **Veterinary Journal**, v. 206, n. 3, p. 371–376, 2015b. DOI 10.1016/j.tvjl.2015.08.015

MENDOZA, F. J.; GONZALEZ-CARA, C. A.; AGUILERA-AGUILERA, R.; TORIBIO, R. E.; PEREZ-ECIJA, A. Effect of intravenous glucose and combined glucose-insulin challenges on energy-regulating hormones concentrations in donkeys. **Veterinary Journal**, v. 240, p. 40–46, 2018. DOI 10.1016/j.tvjl.2018.09.002. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2018.09.002>.

MENDOZA, F. J.; TORIBIO, R. E.; PEREZ-ECIJA, A.. Donkey Internal Medicine—Part I: Metabolic, Endocrine, and Alimentary Tract Disturbances. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 65, p. 66–74, 2018. DOI 10.1016/j.jevs.2018.02.001. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2018.02.001>.

MENDOZA, F. J.; TORIBIO, R. E.; PEREZ-ECIJA, A. Metabolic and Endocrine Disorders in Donkeys. **Veterinary Clinics of North America - Equine Practice**, v. 35, n. 3, p. 399–417, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2019.07.001>.

MENDOZA, F. J.; MEJIA-MOREIRA, S.; BUCHANAN, B. R.; TORIBIO, R. E.; PEREZ-ECIJA, A. Evaluation of the combined glucose-insulin and intravenous glucose tolerance tests for insulin dysregulation diagnosis in donkeys. **Equine Veterinary Journal**, v. 00, p. 1-10, 2021a. <https://doi.org/10.1111/evj.13482>.

MENDOZA, F. J. et al. Characterisation of the oral glucose and sugar tolerance tests and the enteroinsular axis response in healthy adult donkeys. **Equine Veterinary Journal**, v.00, p. 1-10, 2021b. <https://doi.org/10.1111/evj.13544>

MUNIYAPPA, R.; LEE, S.; CHEN, H.; QUON, M. J. Current approaches for assessing insulin sensitivity and resistance in vivo: Advantages, limitations, and appropriate usage. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, v. 294, n. 1, 2008. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00645.2007>.

OLLEY, R. B. et al. Comparison of fasted basal insulin with the combined glucose-insulin test in horses and ponies with suspected insulin dysregulation. **The Veterinary Journal**, v. 252, p. 1-10, 2019.

PAZ, C. F.R.; PAGANELA, J. C.; DOS SANTOS, C. A.; NOGUEIRA, C. E.W.; FALEIROS, R. R. Relação entre obesidade, insulina plasmática e posicionamento da falange distal em equinos da raça crioula. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, n. 6, p. 1699–1705, 2013. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352013000600017>.

PEARSON, R. ANNE; MERRITT, JANE B. Intake, digestion and gastrointestinal transit

time in resting donkeys and ponies and exercised donkeys given ad libitum hay and straw diets. **Equine Veterinary Journal**, v. 23, n. 5, p. 339-343, 1991.

PEARSON, R. A.; OUASSAT. **A guide to live weight estimation and body condition scoring of donkeys**. Scotland: Centre for Tropical Veterinary Medicine, University of Edinburgh, 2000.

PESSOA, A. F. A. et al. Doenças de pele em equídeos no semiárido brasileiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 8, p. 743-748, 2014.

PRITCHARD, A.; NIELSEN, B.; MCLEAN, A.; ROBISON, C.; YOKOYAMA, M.; HENGEMUEHLE, S.; BAILEY, S.; HARRIS, P. Insulin Resistance as a Result of Body Condition Categorized as Thin, Moderate, and Obese in Domesticated U.S. Donkeys (*Equus asinus*). **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 77, p. 31–35, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2019.02.011>.

QUESADA, I.; TUDURÍ, E.; RIPOLL, C.; NADAL, Á. Physiology of the pancreatic α -cell and glucagon secretion: Role in glucose homeostasis and diabetes. **Journal of Endocrinology**, v. 199, n. 1, p. 5–19, 2008. <https://doi.org/10.1677/JOE-08-0290>.

RADIN, M. J.; SHARKEY, L. C.; HOLYCROSS, B. J. Adipokines: A review of biological and analytical principles and an update in dogs, cats, and horses. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 38, n. 2, p. 136–156, 2009. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2009.00133.x>.

RIBEIRO, R. M. **Relação entre obesidade induzida e laminite endocrinopática em equinos mangalarga marchador: aspectos clínicos, laboratoriais, morfométricos e patológicos**. 2017. Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal de Minas Gerais. 2017.

SAMSON, S. L.; GARBER, A. J. Metabolic syndrome. **Endocrinology and Metabolism Clinics of North America**, v. 43, n. 1, p. 1–23, 2014. DOI 10.1016/j.ecl.2013.09.009. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecl.2013.09.009>.

SCHUVER, A.; FRANK, N.; CHAMEROY, K. A.; ELLIOTT, S. B. Assessment of insulin and glucose dynamics by using an oral sugar test in horses. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 34, n. 4, p. 465–470, 2014. DOI 10.1016/j.jevs.2013.09.006. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jevs.2013.09.006>.

SMITH, S.; HARRIS, P. A.; MENZIES-GOW, N. J. Comparison of the in-feed glucose test and the oral sugar test. **Equine Veterinary Journal**, v. 48, n. 2, p. 224–227, 2016. <https://doi.org/10.1111/evj.12413>.

STARKEY, P.; STARKEY, M.. Regional and world trends in donkey populations. **Starkey P and Fielding D (eds)**, p. 10-21, 2000.

VERBERNE, A. J.M.; SABETGHADAM, A.; KORIM, W. S. Neural pathways that control the glucose counterregulatory response. **Frontiers in Neuroscience**, v. 8, n. 8 fev, p. 1–12, 2014. <https://doi.org/10.3389/fnins.2014.00038>.

VICK, M. M. et al. Relationships among inflammatory cytokines, obesity, and insulin sensitivity in the horse. **Journal of Animal Science**, v. 85, n. 5, p. 1144- 1155, 2007.

WOOD, S. J. Some factors affecting the digestible energy requirements and dry matter intake of mature donkeys and a comparison with normal husbandry practices. 2010.303p. (Tese de Doutorado) Universidade de Edimburgo. 2010.

CAPÍTULO 2

ARTIGO CIENTÍFICO

Artigo formatado conforme as normas para publicação no periódico “The Veterinary Journal”

(Disponível em: <https://www.elsevier.com/journals/the-veterinary-journal/1090-0233/guide-for-authors#txt39000>)

Original Article

Avaliação da curva glicêmica e insulinêmica após o teste de açúcar oral em jumentos das raças Pêga e Nordestina

D.B. Becegatto ^{a,*}, M.J. Watanabe ^b

^a *Doutoranda do programa de Pós-graduação em Biotecnologia Animal, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP Botucatu- SP*

^b *Docente do programa de Pós-graduação em Biotecnologia Animal, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP Botucatu- SP*

Destaques

- Comparação do teste de açúcar oral (TAO) em asininos de duas raças
- Valores basais de insulina e glicose em jumentas das raças Nordestina e Pêga saudáveis
- Características de parâmetros energéticos em jumentos

Resumo

O teste de açúcar oral (TAO) utiliza o xarope de milho via oral (VO) para avaliação da resposta glicêmica e insulinêmica, sendo uma opção de triagem no diagnóstico da síndrome metabólica equina (SME), em asininos este teste não está estabelecido. O estudo objetivou avaliar a resposta glicêmica e insulinêmica após a administração do xarope de milho VO para o TAO. Foram utilizadas 20 jumentas, divididas em dois grupos de acordo com a raça, dez da raça Nordestina (135 ± 18 kg) e dez da raça Pêga (293 ± 35 kg). Previamente, os grupos foram submetidos ao exame físico geral e avaliados quanto ao peso, escore de condição corporal (ECC) e escore de crista de pescoço (ECP). Para o TAO foi administrado xarope de milho (0,15 ml/kg, VO) e amostras de sangue venoso foram colhidas para mensuração de glicose imediatamente antes (M0) e 5, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 120, 150, 180, 210 e 240 minutos após a administração do xarope, e para mensuração de insulina antes e aos 5, 15, 45, 60, 75, 90, 120, 150 minutos após. Os animais diferiram em relação ao peso, ECC e ECP. Para a raça Nordestina o ECC teve média de $4,3 \pm 1,05$ e para a raça Pêga a média foi de $5,6 \pm 1,64$. Para o ECP foi de $1,7 \pm 0,82$ para a raça Nordestina e $2,1 \pm 0,73$ para a Pêga. Houve diferença entre as duas raças, com maior média basal de glicose na raça Nordestina ($85,95 \pm 7,23$ mg/dl) em comparação à Pêga ($66,6 \pm 8,97$ mg/dl). Foi possível identificar a curva na glicemia nas duas raças, demonstrando diferença estatística do momento basal na raça Nordestina aos 30, 45, 60, 75 e 90 minutos e aos 45, 60 e 75 minutos para a raça Pêga, os picos de glicemia variaram entre 80-142 mg/dl para a raça Nordestina e 62-100 mg/dl para a Pêga. Para os valores de insulina a média basal foi de $5,4 \pm 2,95$ μ UI/ml para a raça Pêga e $5,02 \pm 2,09$ μ UI/ml para a raça Nordestina, não houve diferença significativa entre as duas

raças nos valores de insulina após a administração do xarope. Foi encontrada correlação positiva entre glicose e insulina para a raça Nordestina. Estes resultados demonstram que é possível considerar o TAO como um teste de triagem na espécie asinina e em conjunto com o histórico do animal e achados clínicos e morfométricos podem fornecer subsídios para o diagnóstico de enfermidades metabólicas nesta espécie, porém é necessário estabelecer os parâmetros para a validação do teste na espécie.

Palavras-chave: Asininos; glicemia; resistência à insulina; síndrome metabólica asinina

Abstract

The oral sugar test (OST) uses corn syrup orally (VO) to assess the glycemic and insulinemic response and is a screening choice in the diagnosis of equine metabolic syndrome (EMS), in donkeys this test has not been established. The study aimed to evaluate the response of donkeys to the administration of VO corn syrup, using 20 animals divided into two groups, ten Nordestina donkeys (135 ± 18 kg) and ten Pêga donkeys (293 ± 35 kg). Prior to the OST, the groups were evaluated for body weight, body condition score (BCS) and neck score (NS), a general physical examination was performed. For the OST, corn syrup (0.15 ml/kg, VO) was administered, samples for glucose measurement were collected before (M0) and 5, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 120, 150, 180, 210 and 240 after administration of the syrup, and for measuring insulin before and at 5, 15, 45, 60, 75, 90, 120, 150 after. The animals differed in relation to weight, BCS and NS, Nordestina donkey had a BCS mean of 4.3 ± 1.05 , for the Pêga donkey, the mean was 5.6 ± 1.64 , NS mean was $1, 7 \pm 0.82$ for Nordestina and 2.1 ± 0.73 for Pêga. There was a difference between the two breeds in OST, with a higher basal mean of glucose in the Nordestina donkey (85.95 ± 7.23 mg/dl) compared to Pêga (66.6 ± 8.97 mg/dl). The blood glucose curve was identified in both two breeds, demonstrating a statistical difference between baseline in Nordestina donkey at 30, 45, 60, 75 and 90 minutes

and at 45, 60 and 75 minutes in Pêga donkey. Blood glucose peaks ranged from 80-142 mg/dl in Nordeste and 62-100 mg/dl for Pêga. Basal mean for insulin was 5.4 ± 2.95 μ IU/ml for Pêga and 5.02 ± 2.09 μ IU/ml for Nordeste breed, there was no significant difference between the two breeds in the insulin values after administration of corn syrup. A positive correlation was found between glucose and insulin for Nordeste breed. These results show that it is possible to consider the TAO as a screening test in the donkey species and with animal data, clinical and morphometric findings can provide subsidies for the diagnosis of metabolic diseases in this species, however it is necessary to establish the parameters for the test validation.

Keywords: Donkeys; blood glucose; insulin resistance; donkey metabolic syndrome

Introdução

A criação de asininos está presente em diversos países e, apesar da sua população ter apresentado decréscimo nos últimos anos, o interesse pela espécie vem se destacando. A versatilidade da espécie asinina faz com que possam ser utilizados na agricultura, produção de muares, produção de leite (tanto para a nutrição quanto para produção de cosméticos) e, em menor escala, para produção de carne, lazer e onoterapia (Burden; Thiemann, 2015, Camilo et al., 2018, Carneiro; Lucena; Barros, 2018).

Assim como os equinos, a espécie asinina também pode ser acometida por enfermidades endócrinas e metabólicas, como obesidade, síndrome metabólica asinina (SMA), desregulação da insulina, disfunção da glândula pituitária e hiperlipemia (Mejia-Pereira et al., 2019, Mendoza; Toribio; Perez-Ecija, 2019). Embora protocolos para o diagnóstico de algumas dessas enfermidades já tenham sido demonstrados e bem estabelecidos em equinos (Schuver et al., 2014, Cantarelli et al., 2018, Mcfarlane, 2019), para a espécie asinina os dados são escassos. Apenas alguns estudos realizados fornecem informações sobre valores de referência, comprovando que existem diferenças entre as espécies equina e asinina (Mendoza et al., 2015a, Mendoza et al., 2015b, Mejia-Pereira et al., 2019, Perez-Ecija et al., 2021).

Dentre essas doenças, a SMA, assim como a equina, possui algumas características centrais que incluem obesidade, desregulação da insulina e laminite endocrinopática. A SM parece ser mais prevalente em asininos que em equinos, e pode ocorrer em diferentes raças, porém, faltam estudos epidemiológicos que demonstrem alguma predisposição racial (Mendoza; Toribio; Perez-Ecija, 2019). Com relação à laminite endocrinopática, os dados para a espécie também são limitados (Thiemann et al., 2021). Foi encontrada prevalência de 48,5% da laminite em estudo utilizando 707 animais, em um período de 42 meses, demonstrando a importância da enfermidade na espécie (Meniezez-gow et al., 2021).

Protocolos de diagnóstico para a síndrome metabólica equina (SME) incluem exame físico detalhado, avaliação da laminite, obesidade/adiposidade regional e exames laboratoriais que identificam desregulação da insulina utilizando testes dinâmicos baseados na administração de xarope de milho via oral (TAO), teste de glicose oral (TGO), teste combinado de tolerância à glicose e teste combinado de glicose e insulina (Frank, 2011, Morgan; Keen; McGowan, 2016, Cantarelli et al., 2018, Durham et al., 2019).

Para a SMA, essas avaliações também são utilizadas e protocolos dinâmicos já foram demonstrados em jumentos para o auxílio no diagnóstico, constatando diferenças entre equinos e asininos (Mendoza et al., 2015a, Mendoza et al., 2018).

O TAO, demonstrado em equinos, pode ser recomendado como um teste de realização de colheitas a campo, podendo ser utilizado como um teste de triagem para detecção da desregulação da insulina. Consiste na administração de xarope de milho via oral e colheitas seriadas de sangue para avaliação de glicose e insulina (Schuver et al., 2014, Lindåse; Nostell; Bröjer, 2016, Smith; Harris; Menzies-Gow, 2016). O teste foi recentemente demonstrado em jumentos visando comparar a resposta ao TAO com o TGO (Mendoza et al. 2021b).

Considerando a relevância da espécie asinina por fatores históricos e atuais, as diferenças que existem entre as espécies de equídeos e a importância de testes diagnósticos práticos e específicos para a espécie, o objetivo deste trabalho foi proceder com o TAO utilizando xarope de milho, já demonstrado em equinos, em duas raças de asininos (Nordestina e Pêga), para a comparação da curva glicêmica e insulinêmica entre raças, e sua correlação com o escore de condição corporal dos animais.

Materiais e métodos

Animais experimentais

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro Universitário Filadélfia – UniFil (CEUA-UniFil) sob o protocolo 006/2020. Foram utilizados 20 animais, divididos em grupos de acordo com a raça, sendo o Grupo 1 (G1), composto por dez jumentas da raça Nordestina (135 ± 18 kg e 8 anos de idade), e o Grupo 2 (G2), composto por dez jumentas da raça Pêga (293 ± 35 kg e 7 ± 4 anos de idade). Todos os animais passaram por inspeção e exame físico geral e foram considerados hígidos.

Os animais foram mantidos nas condições de acordo com o local onde estavam alojados, as jumentas do G1 permanecem em piquetes na Universidade do Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, no município de Botucatu-SP (FMVZ – UNESP – Botucatu), eram mantidos à pasto e recebiam alimentação com feno *cost-cross*.

Os animais do G2, estavam alojadas no Centro de Melhoramento Genético UniFil em Londrina-PR os animais ficavam a pasto, recebiam feno pré-secado e ração (Nutristar Alta Performance®).

Avaliação e Mensurações Morfométricas

Para cada animal foi preenchida uma ficha de avaliação contendo as informações sobre localização, raça, idade, tipo de atividade desempenhada, tipo de alimentação, alojamento, histórico de doenças nos últimos 6 meses e exame físico geral. Também foram avaliados o Escore de Condição Corporal (ECC) e Escore de Crista de Pescoço (ECP), de acordo com Pearson e Ouassat (2000) e Mendoza (2015b), respectivamente.

Também foi avaliada a presença de tecido adiposo subcutâneo na região da cernelha, escápula e base da cauda. O peso dos indivíduos dos grupos G1 e G2, foi mensurado através do cálculo $\text{Peso (kg)} = [(\text{circunferência torácica(cm)}^{2.12}) \times (\text{comprimento do corpo(cm)}^{0.688}) \div 3801]$, de acordo com Pearson e Ouassat, 2000.

Teste de açúcar oral e colheita de amostras

Antes da colheita das amostras, os animais foram pesados e alojados em baia com acesso livre à água e quantidade limitada de feno no período da noite, obtendo 8 horas de jejum, sendo que durante o período de coleta os animais foram mantidos no local.

No dia seguinte, foram colhidas amostras (T0) em tubo contendo fluoreto de sódio para mensuração de glicose, e em tubo com fator ativador de coágulo para mensuração de insulina por meio de venopunção da jugular direita através de sistema a vácuo. Após a colheita do T0 foi realizada tricotomia no terço médio da veia jugular esquerda e botão anestésico com lidocaína 2% sem vasoconstritor (Lidovet ®; Laboratório Bravet Ltda., Rio de Janeiro, RJ, Brasil), antissepsia e cateterização com cateter 14G (Safelet™, Nipor Medical Ltda., Sorocaba, SP, Brasil). Após 45 minutos, uma amostra foi obtida (M0), em tubo de fluoreto de sódio, para mensuração da glicose, a partir desse momento, todas as amostras foram coletadas por meio do sistema a vácuo, com o auxílio agulhas e guias para sistema de colheita à vácuo através do adaptador PRN Luer Lock BD™ (Becton Dickinson Indústrias Cirúrgicas Ltda., Curitiba, PR, Brasil) acoplado diretamente ao cateter.

Após a colheita do M0, foi administrado xarope de milho (YOKI®, General Mills Brasil Alimentos Ltda., Paranavaí, PR, Brasil) na dose de 0,15ml/kg, V.O, com o auxílio de seringas plásticas de 60ml. Antes de cada colheita sanguínea foram descartados 3ml de sangue e após foram infundidos 5ml de solução fisiológica (NaCl 0,9%) visando a impedir a formação de coágulos no interior do cateter.

Amostras colhidas em tubos contendo fluoreto de sódio foram imediatamente armazenados sob refrigeração até a centrifugação. Aquelas em tubos com fator ativador de coágulo foram mantidas à temperatura ambiente por pelo menos 20 minutos e então centrifugadas por 10 minutos a 3.500 g. Após a obtenção do soro e plasma, as amostras foram armazenadas e conservadas por congelamento (- 20°C) até o momento das análises.

As amostras para mensuração de glicose foram coletadas aos 5, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 120, 150, 180, 210 e 240 minutos após a administração do xarope, e as amostras para mensuração de insulina aos 5, 15, 45, 75, 90, 120, 150 minutos (Apêndice A).

As concentrações de glicose foram mensuradas por método Enzimático Colorimétrico com Fator Clareante de Lipídeos, as concentrações de insulina por método de quimioluminescência.

Análise estatística

Os dados obtidos foram avaliados quantitativa e qualitativamente. Para a avaliação da curva glicêmica, foram analisadas as mudanças intergrupos em cada momento (Nordestina versus Pêga) e intragrupo comparando o momento basal com os demais (T0 versus T15, T30, T45, T60, T75, T90, T150 e T240). Na avaliação da curva insulinêmica, para a comparação intergrupo em cada momento e intragrupo, comparando o momento basal com os demais, foram considerados T0, T45, T90 e T150. Ambas as análises foram conduzidas por modelo linear misto.

A variável glicose mostrou distribuição residual assumida como gaussiana por gráfico quantil-quantil. O modelo ajustado adotado incluiu a interação entre grupos e momentos como efeito fixo e os animais como efeito aleatório.

Para a variável preditora insulina um *outlier* foi identificado e retirado antes da análise. O erro residual dos modelos mostrou aderência com distribuição gaussiana por gráfico quantil-quantil, histograma e pelos testes de Shapiro-Wilk e Cramer-von Mises.

Os modelos ajustados adotados incluíram a presença de prenhez, a idade e a interação entre grupos e momentos como efeitos fixos e os animais como efeito aleatório.

Múltiplas comparações foram realizadas no pós-teste com a correção do procedimento de Bonferroni. Gráficos de caixas foram construídos para apresentar os resultados.

Com propósito de analisar a relação entre a glicemia e insulinemia com o ECC, foi conduzida uma correlação de postos de Spearman. Para esta análise foi utilizada a mensuração no momento basal de glicose e insulina para a correlação com ECC, enquanto para a correlação entre glicose e insulina foram usados os momentos concomitantes entre as variáveis (0, 45, 90 e 150 min).

As análises estatísticas foram realizadas no software R com o ambiente de desenvolvimento integrado RStudio (Version 4.0.2 (2020-06-22), RStudio, Inc.). Considerou-se α de 5% em todas as análises.

Resultados

Avaliação da obesidade e Mensurações Morfométricas

Todos os animais deste estudo eram hígidos, apresentando exame físico geral dentro dos parâmetros normais para a espécie. O ECC da raça Nordestina variou de 3 – 5, sendo que a média foi de $4,3 \pm 1,05$. Para a raça Pêga variou de 3 – 8 e a média foi de $5,6 \pm 1,64$, segundo a escala de Pearson (2000). A média para o ECP foi de $1,7 \pm 0,82$ para a Nordestina, com variação entre 1 – 3, e $2,1 \pm 0,73$ para a Pêga com a mesma variação, segundo a escala proposta por Mendoza et al. (2015b).

Na avaliação da presença de adiposidade regional, nove jumentas da raça Nordestina apresentaram adiposidade na cernelha. Na raça Pêga todas apresentavam presença de tecido adiposo na região. Para a presença de tecido adiposo na base da cauda, cinco animais da raça Nordestina e 7 da raça Pêga apresentaram essa alteração, já a presença de tecido adiposo na

base da escápula não foi observada em nenhum animal da raça Nordestina e em três da raça Pêga.

Teste de Açúcar Oral (TAO)

Não ocorreram intercorrências na administração do xarope via oral por meio da seringa de 60ml e os animais não apresentaram efeitos adversos. Foram analisadas as mensurações no momento basal (antes da administração do xarope), T15, T30, T45, T60, T75, T90, T150 e T240 para avaliação da resposta glicêmica ao estímulo do xarope de milho via oral.

Após a administração do xarope de milho via oral, a resposta glicêmica foi maior nas jumentas da raça Nordestina em todos os momentos em relação à raça Pêga, havendo diferença estatística. A raça Nordestina apresentou glicemia acima dos valores basais nos momentos T30, T45, T60, T75 e T90, para a raça Pêga a glicose foi maior que o momento basal em T45, T60 e T75 (Figura 1). A presença de prenhez ($p=0,6802$) e a idade ($p=0,4819$) não mostraram influência significativa para a glicose segundo o modelo linear misto.

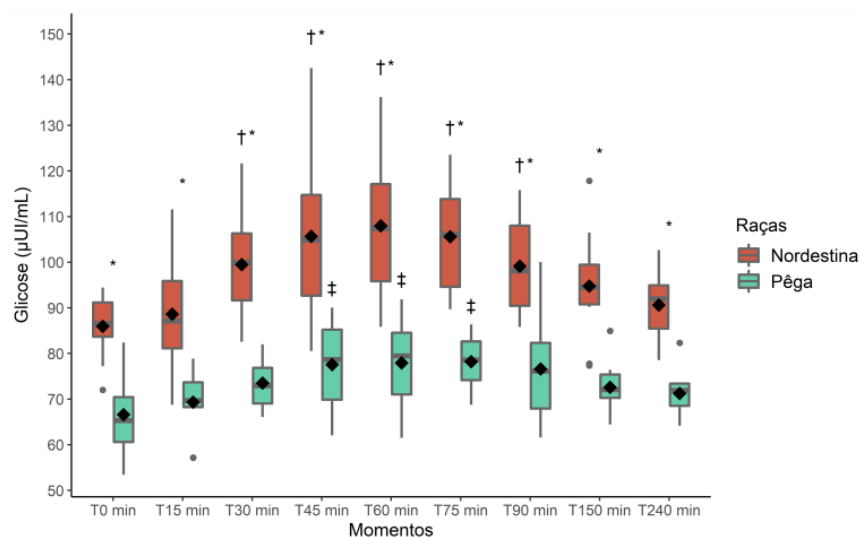


Figura 1- Gráfico de caixas da glicose (mg/dl) mostrando comparações temporais de intragrupo (T0 versus T15, T30, T45, T60, T75, T90, T150 e T240) e as intergrupo em cada momento (Nordestina versus Pêga).♦, média; *, diferença estatística entre grupos em cada momento; † indica diferença estatística da mensuração na raça Nordestina em relação ao T0; ‡ indica diferença estatística da mensuração na raça Pêga em relação ao T0.

Para a raça Nordestina, a média do momento 0 (antes da administração do xarope) foi $85,95 \pm 7,23\text{mg/dl}$, para a raça Pêga a média foi $66,6 \pm 8,97\text{mg/dl}$. Os momentos de pico da glicemia foram variáveis entre os animais e ocorreram com maior frequência nos momentos T45, T60 e T75 após a administração do xarope de milho. Para a raça Nordestina o pico da glicemia ficou entre $80 - 142\text{ mg/dl}$, já para a raça Pêga, entre $62 - 100\text{mg/dl}$.

A média de insulina no momento basal na raça Nordestina foi de $4,87 \pm 2,17\text{ }\mu\text{UI/ml}$, para a raça Pêga a média foi $5,4 \pm 2,95\text{ }\mu\text{UI/ml}$. Não houve diferença estatística entre as raças (Figura 2). Em comparação ao momento basal, a insulina foi maior para a raça Nordestina nos momentos T45 e T90, enquanto para a raça Pêga foi maior em T45. A presença de prenhez ($p=0,3579$) e a idade ($p=0,1251$) não tiveram efeito significativo para a insulina no modelo linear.

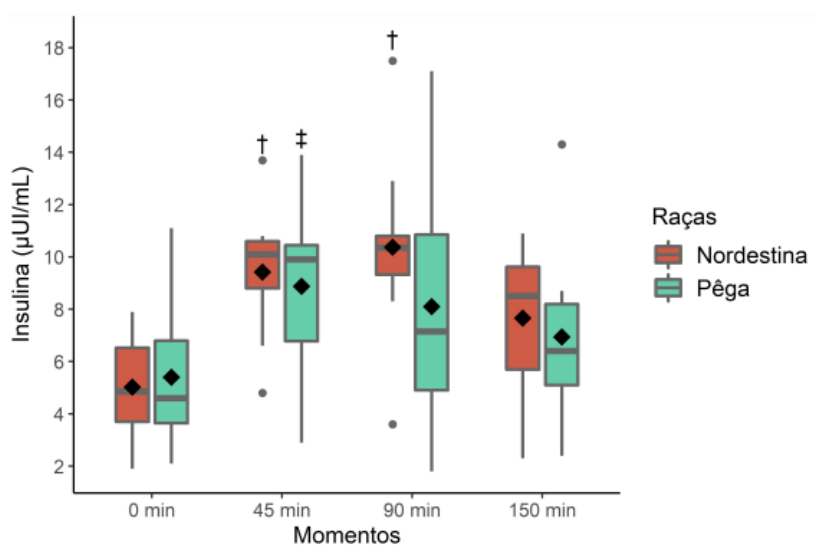


Figura 2 Gráfico de caixas da insulina ($\mu\text{UI/ml}$) mostrando comparações temporais de intragrupo (T0 versus T45, T90 e T150) e as intergrupo em cada momento (Nordestina versus Pêga). Os limites inferior e superior da caixa representam respectivamente o primeiro e terceiro quartil; a linha horizontal mais espessa dentro da caixa indica a mediana; o losango indica a média; * indica diferença estatística entre grupos em cada momento; † indica diferença estatística da mensuração na raça Nordestina em relação ao T0; ‡ indica diferença estatística da mensuração na raça Pêga em relação ao T0.

Relação ECC e parâmetros energéticos

O ECC mostrou uma correlação significativa positiva moderada com insulina de ambas as raças juntas (Figura 3), enquanto a glicose não mostrou correlação significativa com

o ECC. Entre glicose e insulina houve uma correlação positiva moderada somente para a raça Nordestina e uma correlação positiva fraca considerando as duas raças juntas (Figura 4).

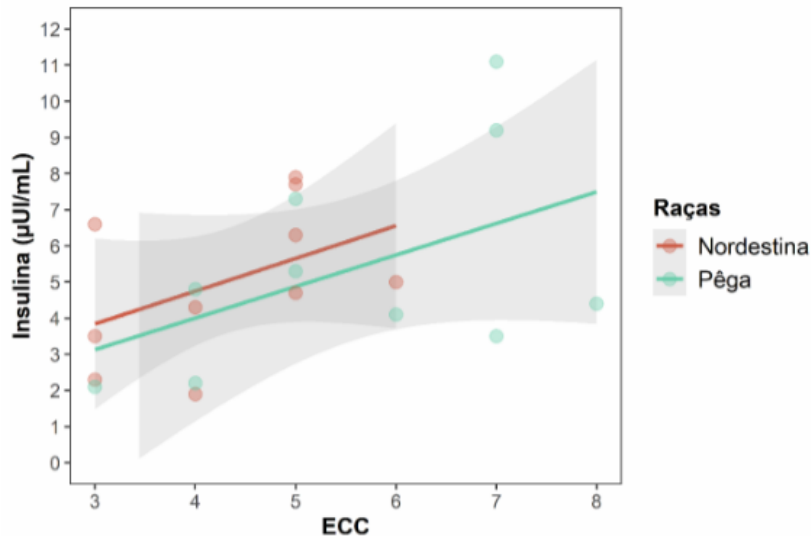


Figura 3 -Gráfico de dispersão entre insulina e escore de condição corporal. A correlação foi conduzida com o coeficiente de correlação de postos de Spearman; para raça Nordestina $\rho=0,48$ e $p=0,1511$; para raça Pêga $\rho=0,45$ e $p=0,1980$; para ambas as raças $\rho=0,46$ e $p=0,0417$; Interpretação do coeficiente de correlação de Spearman: muito fraca;0.19; fraca 0.2–0.39; moderada 0.4–0.59; forte 0.6–0.79; muito forte 0.8–1 (Evans, 1996).

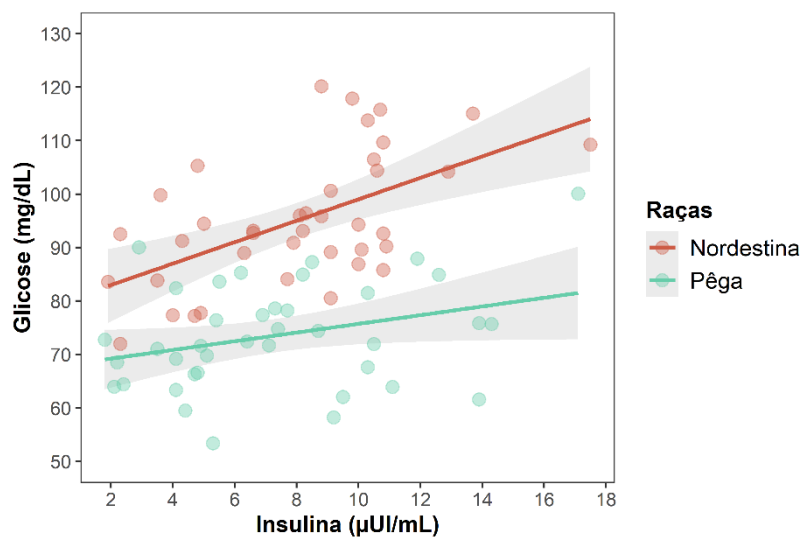


Figura 4 - Gráfico de dispersão entre glicose e insulina 0, 45, 90 e 150 min após a administração do xarope. A correlação foi conduzida com o coeficiente de correlação de postos de Spearman; para raça Nordestina $\rho=0,51$ e $p=0,0008$; para raça Pêga $\rho=0,26$ e $p=0,1180$; para ambas as raças $\rho=0,37$ e $p=0,0011$; Interpretação do coeficiente de correlação de Spearman: muito fraca;0.19; fraca 0.2–0.39; moderada 0.4–0.59; forte 0.6–0.79; muito forte 0.8–1 (Evans, 1996).

Discussão

O presente estudo considerou o TAO, por ser um teste que pode fornecer informações sobre a dinâmica da glicose e insulina séricas, sendo considerado um teste de triagem, o que vai ao encontro de pesquisas em equinos utilizando este mesmo teste (Schuver et al., 2014, Van Den Wollenberg et al., 2020).

O xarope de milho utilizado (YOKI®, General Mills Brasil Alimentos Ltda) foi o mesmo utilizado por outros autores para execução do mesmo teste em equinos (Cantarelli et al., 2018, Novello et al., 2020). Moser e Banse (2019) compararam a utilização de produtos de diferentes fabricantes, porém similares não encontrando diferenças no TAO. O xarope utilizado possui em sua composição, segundo o fabricante, glicose e açúcar invertido. A maioria dos estudos em equinos recomenda a utilização do xarope de glicose de milho (Karo Light ® Corn Syrup) (Smith; Harris; Menzies-Gow, 2016, Knowles et al., 2017, Durhan et al., 2019), entretanto, sua disponibilidade é limitada em vários países. Uma vez que a resposta de insulina e glicose ao teste oral não sofre influência apenas da quantidade de açúcar, mas também do tipo de açúcar, é importante o conhecimento sobre a composição do xarope utilizado (Lindåse; Nostell; Bröjer, 2016).

A dose de xarope utilizada neste estudo foi de 0,15ml/kg, como já estabelecido para equinos (Frank, 2011, Geor; Mccue; Schultz, 2013, Schuver et al., 2014). Até o momento, não foram reportados outros estudos utilizando o TAO em asininos, comparando duas raças, portanto, utilizou-se uma dose já definida e recomendada para equinos. Os resultados no presente estudo demonstraram que a dose utilizada levou a um aumento na glicemia em ambas as raças, se diferenciando estatisticamente do momento basal.

Para os valores de insulina também foi observado aumento do momento basal em relação aos 45 minutos após a administração. Estudos prévios sugerem doses maiores de

xarope de milho, para que o fornecimento de glicose seja semelhante ao do teste de glicose oral, visando melhorar a capacidade diagnóstica (Lindåse; Nostell; Bröjer, 2016, Jocelyn; Harris, Menzies-Gow, 2018). Em estudo em asininos comparando o TGO e TAO, os autores utilizaram o xarope de milho na dose de 0,45ml/kg, os resultados apresentaram resposta menor de glicose e insulina, comparado ao TGO, porém com valores semelhantes ao relatado em pôneis utilizando a dose mais baixa (0,15ml/kg) no TAO (Mendoza et al., 2021b).

Os animais deste estudo se apresentaram normoglicêmicos e normoinsulinêmicos. Em equinos, valores para insulina em jejum superiores a 50 $\mu\text{UI/ml}$ sugerem insensibilidade a insulina (Frank et al., 2020), para asininos, ainda não há consenso sobre os valores basais, sendo proposto 20 $\mu\text{UI/ml}$ (Du Toit, Trawford, Keen, 2010). Estudos demonstraram que valores de insulina em jumentos saudáveis são menores que em equinos (Dugat et al., 2010).

O diagnóstico da disfunção da insulina deve se basear nas concentrações de glicose e insulina basais em jejum e na realização de testes dinâmicos (Mendoza; Toribio; Perez-Ecija, 2018, Mendoza; Toribio; Perez-Ecija, 2019). A média da concentração de glicose em jejum, no momento antes da administração do xarope (M0) foi maior para os animais da raça Nordestina em relação à raça Pêga, no entanto, os resultados se assemelham aos que foram descritos por outros autores, tanto para equinos quanto para asininos (Girard et al., 2014, Mendoza et al., 2015a, Mendoza et al., 2015b, Cantarelli et al., 2018).

A média basal de insulina foi de $4,87 \pm 2,17 \mu\text{UI/ml}$ para raça Nordestina e $5,4 \pm 2,95 \mu\text{UI/ml}$ para a raça Pêga, o que se assemelha ao reportado por Mendoza et al. (2021b) que encontraram uma média de insulina basal de 4,6 $\mu\text{UI/ml}$ em jumentas saudáveis da raça Andaluz. Jumentos considerados magros, moderados e obesos, tiveram resultados de insulina basal de 3,3, 8,6 e 17,8 mU/l respectivamente (McLean et al., 2009). Mendoza et al. (2015b), encontraram médias de insulina basal de $9,9 \pm 0,8 \mu\text{UI/ml}$ e $10,3 \pm 0,6 \mu\text{UI/ml}$ em jumentos com ECC ótimo e obesos, respectivamente.

Visando identificar os momentos de pico da glicemia e insulinemia, as amostras foram colhidas inicialmente a cada 15 minutos e, após 90 minutos da administração do xarope, a cada 30 minutos. As recomendações para o momento da colheita da amostra após a administração do xarope variam de acordo com o teste utilizado. Mendoza et al. (2019) sugeriram que a colheita seja realizada entre 300 e 360 minutos após. Na realização do TAO em asininos, Mendoza et al. (2021b) realizaram as colheitas no momento basal e a partir de 30 minutos após a administração do xarope de milho, com um intervalo de 30 minutos entre as coletas até 300 minutos após a colheita.

O aumento da glicemia foi significativo na raça Nordestina aos 30, 45, 60, 75 e 90 minutos e para a raça Pêga aos 45, 60 e 75 minutos após a administração do xarope de milho, houve variação com relação ao pico de glicose, porém, em ambas as raças, foi observado um aumento nas concentrações de glicose entre 45 e 75 minutos. Os resultados se assemelham aos estudos em equinos que, na execução do TAO, sugerem que as colheitas de amostras de sangue sejam realizadas entre 60 a 90 minutos após a administração do xarope (Frank, 2011, Schuver et al., 2014).

Os valores para os picos da glicemia do presente estudo se assemelham ao relatado em equinos e asininos (Schuver et al., 2014, Cantarelli et al., 2018, Mendoza et. al 2021b).

Estudos em asininos utilizando o Teste de Tolerância à Glicose Intravenosa e Teste Combinado de Glicose e Insulina para a avaliação da resistência à insulina, observaram que a curva glicêmica se deslocou para a direita, apresentando também uma fase positiva (tempo do início até a glicose retornar aos níveis basais) prolongada (Mendoza et al., 2015a). Mendoza et. al (2021b) realizaram o TAO em asininos e também observaram o deslocamento da curva para a direita sendo que o pico de glicose ocorreu de 120 a 300 minutos após a administração, além de uma maior duração de elevadas concentrações de glicose.

Houve uma elevação da insulinemia comparada ao momento basal aos 45 e 90 minutos para a raça Nordestina e aos 45 minutos para a raça Pêga, sendo que o pico para a raça Nordestina ficou entre 4,8 – 13,7 μ UI/ml e 2,9 – 13,9 μ UI/ml na raça Pêga. Neste sentido, considerando valores estabelecidos para equinos ($> 30 \mu$ UI/ml), nenhuma jumenta foi considerada com desregulação da insulina (Frank et al., 2020). Jumentas consideradas saudáveis, submetidas ao teste de tolerância à glicose intravenosa apresentaram insulina média de $8,9 \pm 0,7 \mu$ UI/ml e $8,1 \pm 0,8 \mu$ UI/ml no teste combinado de glicose-insulina (Mendoza et al. 2015a). Asininos submetidos ao TAO com dose de 0,45ml/kg de xarope de milho apresentaram valores de insulina de 6-8 μ UI/ml em jumentas saudáveis e apresentaram o pico de insulina entre 120-150 minutos após a administração do xarope (Mendoza et. al., 2021b).

Assim como em equinos, fatores relacionados ao jejum, estresse, dor, doenças concomitantes, podem interferir nos resultados dos testes (Mendoza; Toribio; Perez-Ecija, 2018). Os animais utilizados neste estudo foram considerados saudáveis e, durante as coletas, a mínima manipulação e a manutenção dos mesmos em seu local de origem foram medidas adotadas para evitar estresse.

Quanto ao jejum, para a realização do TAO em equinos, é recomendado o fornecimento de feno na noite anterior ao teste, para um jejum de aproximadamente oito horas que se estenda durante a realização do teste (Frank, 2011, Schuver et al., 2014, Smith; Harris; Menzies-Gow, 2016). Para os testes já desenvolvidos em asininos, essa recomendação também é considerada a fim de evitar hiperlipemia (Mendoza; Toribio; Perez-Ecija, 2019).

Neste sentido, para a presente pesquisa foi fornecido feno na noite anterior para os animais, foi observado que no início das coletas não havia mais feno disponível e durante as quatro horas de coleta os animais permaneceram sem alimentação, apenas com acesso à água. Na avaliação do perfil hormonal de jumentos adultos e a influência do escore corporal em

resposta ao jejum, foi demonstrado que o jejum a partir de 12 horas afetou a homeostase dos hormônios reguladores de energia, mesmo em animais saudáveis, porém, em animais obesos a mobilização lipídica ocorre mais rapidamente, além do efeito sobre as concentrações de glicose ser mais evidente também nesse grupo de animais apresentando níveis abaixo dos valores basais após 24 horas de jejum (Perez-Ecija et al., 2021). Portanto, ao realizar testes dinâmicos, o jejum e a sua duração devem ser considerados na interpretação dos exames (Bertin et al., 2016, Mendoza et al., 2021a).

O presente estudo utilizou apenas fêmeas. Em equinos, o sexo foi sugerido como um fator que pode alterar a resposta de variáveis endócrinas, como a insulina e glicose, em testes dinâmicos. A avaliação de parâmetros metabólicos em asininos demonstrou diferenças entre sexo, por exemplo, na sensibilidade à insulina (McLean et al., 2009).

Nos animais da raça Pêga, 6 animais, estavam prenhes, nesses animais, o pico de glicose ocorreu mais tardiamente persistindo até 150 minutos após a administração do xarope, os resultados se assemelham ao reportado por George et al. (2011) que avaliaram o efeito da prenhez em éguas sobre a dinâmica de glicose e insulina e a sensibilidade a insulina e demonstraram que a depuração de glicose nos animais gestantes foi mais lenta em comparação aos não-gestantes,

Houve diferença significativa entre as duas raças estudadas, uma vez que, a raça Nordestina apresentou maiores concentrações de glicose à administração do xarope. Estudos prévios comparando raças de equinos e pôneis demonstraram diferenças na dinâmica da glicose e insulina após o TAO e teste de tolerância à glicose intravenosa (Bamford et al., 2014). Apesar de existirem semelhanças com relação às características da síndrome metabólica entre as raças, a magnitude das respostas e valores relacionados à glicemia, insulinemia, triglicerídeos e outros fatores podem diferir (Schultz et al., 2012, Bröjer et al. 2013, Geor; Mccue; Schultz, 2013).

Em asininos, não existem dados epidemiológicos sobre predisposição de desenvolvimento de SMA de acordo com a raça (Mendoza; Toribio; Perez-Ecija, 2019).

Assim, as diferenças entre as concentrações de glicose podem estar relacionadas à predisposição racial, ou em decorrência de variações relacionadas à peso, ECC ou fatores ambientais como a dieta, uma vez que os dois grupos diferiram nestes fatores.

As características morfométricas dos animais variaram neste estudo, os grupos diferiram na média de peso, ECC e ECP. Animais da raça Pêga apresentaram maior média de ECC e peso e também apresentaram menores valores de concentração de glicose, porém os resultados não demonstraram correlação significativa entre os dois parâmetros. Mendoza et al. (2015b) identificaram que asininos com sobrepeso apresentaram média menor na concentração de glicose, esses resultados coincidem com o presente estudo.

Houve correlação moderada positiva entre ECC e insulina no presente estudo, associando maior ECC com maiores concentrações de insulina. A relação entre a insulina e a condição corporal de equinos já foi demonstrado por outros autores, evidenciando maiores concentrações de insulina em animais obesos, além de apresentar menor sensibilidade à insulina (Frank et al., 2006, Pleasant et al., 2013, Martin-Gimenez et al., 2016). Em asininos, animais obesos também apresentaram maiores concentrações insulina em comparação a animais de ECC moderado e magro, porém não houve diferença nos demais parâmetros. Asininos obesos também tendem a ter menor sensibilidade à insulina que animais magros, concluindo que o ECC pode afetar as funções metabólicas de jumentos, de forma semelhante com o que ocorre em equinos e pôneis (Pritchard et al., 2019).

A alimentação dos animais se diferiu entre os dois grupos, sendo que os animais da raça Nordestina ficavam à pasto e recebiam feno de coast-cross, estes animais apresentaram maiores níveis de glicose sérica após a administração do xarope em comparação às jumentas Pêga que recebiam feno pré-secado e ração, os resultados vão aos encontro de estudos

utilizando o Teste de Glicose Oral em pôneis e equinos, que observaram que animais recebendo dietas com maiores níveis de carboidratos, como ração apresentam menores curvas de glicose em comparação aos animais mantidos a pasto, sugerindo que o tipo de dieta pode influenciar na quantidade de glicose absorvida ou no metabolismo da glicose (Jacobs; Bolton, 1982, Murphy; Reid; Love, 1997). No trabalho realizado por Murphy, Reid e Love (1997), comparando grupos de pôneis recebendo diferentes tipos de dieta eles observaram um efeito marcante no metabolismo de glicose em decorrência do tipo de dieta, com menores concentrações de glicose após o teste de glicose oral nos animais alimentados com grãos, os autores também sugeriram que o tipo de dieta possa influenciar também na resposta à insulina.

Apesar da diferença demonstrada na glicemia entre as raças, os valores de insulina foram semelhantes. Smyth, Young e Hammond (1989) avaliaram o efeito da dieta na insulina pós-prandial e observaram que a secreção de insulina pós-prandial é afetada pela composição da dieta, mas não pelo tempo que o animal recebe esta dieta devido à uma adaptação sugerindo que a resposta da insulina após uma dose de glicose não deve ser influenciada pela dieta de manutenção.

No presente estudo foi observado que o aumento da glicemia levou ao aumento da insulinemia. O grupo de jumentos da raça Nordestina apresentou uma correlação positiva moderada entre glicose e insulina, porém, considerando as duas raças, foi obtido uma fraca correlação entre os dois parâmetros, o que se assemelha ao já relatado em estudos em equinos. Ao comparar um grupo de equinos diagnosticados com SME e um grupo saudável, utilizando o TAO e o teste de tolerância à glicose intravenosa, autores relataram que em ambos os testes a concentração de glicose e insulina foi maior no primeiro grupo, e demonstraram correlação positiva entre os valores para glicose e insulina nos dois testes, o que ampara o uso do TAO para mensuração indireta da sensibilidade à insulina, além do teste promover um maior

controle na mensuração de glicose e insulina pós-prandial pois é realizado sob condições controladas (Schuver et al., 2014).

A investigação sobre a hiperinsulinemia em equinos pode ser um fator crítico para o diagnóstico da síndrome metabólica e pode estar relacionada não à captação de glicose, mas sim de outras causas, principalmente as gastrointestinais (De Graaf-Roelfsema, 2014, Bamford et al., 2014, DeLaat; McGree; Sillence, 2016). Assim, no presente estudo foi utilizado o Teste de Açúcar Oral por ser um teste dinâmico que se assemelha às condições fisiológicas, uma vez que o açúcar administrado pela via oral estimula também o eixo enteroinsular e liberação de incretinas, auxiliando no diagnóstico da hiperinsulinemia e desregulação da insulina, indicando se o asinino apresenta uma resposta inadequada de insulina à uma dieta rica em carboidratos não estruturais (Dumbar et al., 2016).

No presente estudo não foram realizadas avaliações relacionadas às incretinas. No diagnóstico da DI, a avaliação de incretinas (principalmente o peptídeo semelhante ao glucagon 1 e o peptídeo insulínico dependente de glicose) vem sendo sugerida e demonstrada, mostrando notável correlação do peptídeo semelhante ao glucagon 1 com a secreção de insulina em equinos (DeLaat; McGree; Sillence, 2016, Bertin; De Laat, 2017). Em asininos, também foi suposto esta relação das incretinas com a secreção de insulina, sendo maior a secreção de incretinas no TGO em comparação ao TAO (Mendoza et al., 2021b), o que reforça a necessidade de maiores estudos utilizando o TAO como triagem no diagnóstico da SMA.

Podem ser apontadas como limitações no presente estudo, a variabilidade de manejo ambiental e alimentar e ECC entre os grupos o que pode ter influenciado na resposta ao teste. Houve também dificuldade de comparação com outros estudos na espécie.

Os resultados demonstram que o TAO em asininos é um teste executável, sendo possível identificar resposta glicêmica à administração do xarope VO e uma correlação

positiva entre a glicemia e insulina na raça Nordestina, demonstrando que o teste pode fornecer informações sobre a dinâmica de glicose e insulina em jumentos, também demonstram que apesar das semelhanças com equinos, os jumentos possuem particularidades o que traz a necessidade de desenvolvimento de testes e parâmetros específicos para a espécie para evitar equívocos no diagnóstico das doenças relacionadas ao seu metabolismo.

Conclusão

Através do TAO foi possível identificar o aumento significativo na glicemia, indicando que este pode ser um teste para auxiliar na avaliação da dinâmica de glicose e insulina. Houve diferença na resposta glicêmica ao teste entre os grupos, além do fator racial, as diferenças em relação à dieta e ECC desses animais, devem ser levadas em consideração ao avaliar as diferenças obtidas. Com relação à resposta insulinêmica, não houve diferença significativa entre as raças. Não foi demonstrado correlação entre valores de glicemia basal e ECC, porém para a insulina ocorreu correlação positiva quando comparada ao ECC, o que sugere que jumentos com maior ECC apresentam maiores concentrações de insulina, isso salienta a importância do acompanhamento desses animais na prevenção de enfermidades metabólicas. Houve correlação positiva entre glicose e insulina apenas para a raça Nordestina o que sustenta a possibilidade do uso do TAO em asininos no diagnóstico de alterações metabólicas, porém, é necessária a padronização de testes e valores para o diagnóstico, uma vez que existem diferenças com a espécie equina.

Conflito de interesse

Os autores não possuem interesses pessoais e financeiros que podem trazer vieses ou influenciar de alguma forma o trabalho.

Referências

- Bamford, N.J., Potter, S.J., Harris, P.A., Bailey, S.R., 2014. Breed differences in insulin sensitivity and insulinemic responses to oral glucose in horses and ponies of moderate body condition score. *Domest. Anim. Endocrinol.* 47, 101–107.
<https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2013.11.001>
- Bertin, F.R., Taylor, S.D., Bianco, A.W., Sojka-Kritchevsky, J.E., 2016. The Effect of Fasting Duration on Baseline Blood Glucose Concentration, Blood Insulin Concentration, Glucose/Insulin Ratio, Oral Sugar Test, and Insulin Response Test Results in Horses. *J. Vet. Intern. Med.* 30, 1726–1731. <https://doi.org/10.1111/jvim.14529>
- Bröjer, J., Lindåse, S., Hedenskog, J., Alvarsson, K., Nostell, K., 2013. Repeatability of the combined glucose-insulin tolerance test and the effect of a stressor before testing in horses of 2 breeds. *J. Vet. Intern. Med.* 27, 1543–1550. <https://doi.org/10.1111/jvim.12172>
- Burden, F., Thiemann, A., 2015. Donkeys are different. *J. Equine Vet. Sci.* 35, 376–382.
<https://doi.org/10.1016/j.jevs.2015.03.005>
- Camillo, F., Rota, A., Biagini, L., Tesi, M., Fanelli, D., Panzani, D., 2018. The Current Situation and Trend of Donkey Industry in Europe. *J. Equine Vet. Sci.* 65, 44–49.
<https://doi.org/10.1016/j.jevs.2017.11.008>
- Cantarelli, C., Dau, S.L., Stefanello, S., Azevedo, M.S., De Bastiani, G.R., Palma, H.E., Brass, K.E., De La Côte, F.D., 2018. Evaluation of oral sugar test response for detection of equine metabolic syndrome in obese Crioulo horses. *Domest. Anim. Endocrinol.* 63, 31–37.
<https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2017.10.006>
- Carneiro, G.F., Cavalcante Lucena, J.E., de Oliveira Barros, L., 2018. The Current Situation and Trend of the Donkey Industry in South America. *J. Equine Vet. Sci.* 65, 106–110.
<https://doi.org/10.1016/j.jevs.2018.03.007>
- De Graaf-Roelfsema, E., 2014. Glucose homeostasis and the enteroinsular axis in the horse: A

possible role in equine metabolic syndrome. *Veterinary Journal*.

<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.09.064>

De Laat, M.A., McGree, J.M., Sillence, M.N., 2016. Equine hyperinsulinemia: Investigation of the enteroinsular axis during insulin dysregulation. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism* 310, E61–E72. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00362.2015>

Dugat, S.L., Taylor, T.S., Matthews, N.S., Gold, J.R., 2010. Values for Triglycerides, Insulin, Cortisol, and ACTH in a Herd of Normal Donkeys. *Journal of Equine Veterinary Science* 30, 141–144. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2010.01.054>

Dunbar, L.K., Mielnicki, K.A., Dembek, K.A., Toribio, R.E., Burns, T.A., 2016. Evaluation of Four Diagnostic Tests for Insulin Dysregulation in Adult Light-Breed Horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 30, 885–891. <https://doi.org/10.1111/jvim.13934>

Durham, A.E., Frank, N., McGowan, C.M., Menzies-Gow, N.J., Roelfsema, E., Vervuert, I., Feige, K., Fey, K., 2019. ECEIM consensus statement on equine metabolic syndrome. *J. Vet. Intern. Med.* 33, 335–349. <https://doi.org/10.1111/jvim.15423>

Du Toit, N., & Trawford, A. F., 2010. Determination of serum insulin and insulin resistance in clinically normal donkeys and donkeys with a history of laminitis (obese and non-obese). *Journal of Veterinary Internal Medicine.* 24, 779-779.

Frank, N. 2011. Equine Metabolic Syndrome. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 27(1), 73–92. doi:10.1016/j.cveq.2010.12.004

Frank, N., Bailey, S., Bertin, F. R., De Laat, M. A., Durham, A. E., Kritchevsky, J., & Menzies-Gow, N. J. 2020. Recommendations for the diagnosis and treatment of equine metabolic syndrome (EMS). Equine Endocrinology Group.

Frank, N., Elliott, S.B., Brandt, L.E., & Keisler, D. H., 2006. Physical characteristics, blood hormone concentrations, and plasma lipid concentrations in obese horses with insulin resistance. *Journal of the American Veterinary Medical Association.* 228, 1383-1390.

- Geor, R.J., Mccue, M., Schultz, N., 2013. Current Understanding of Equine Metabolic Syndrome. *Am. Assoc. Equine Pract. Proceeding* 59, 297–304.
- George, L.A., Staniar, W.B., Cubitt, T.A., Treiber, K.H., Harris, P.A., Geor, R.J., 2011. sensitivity , insulin secretion , and glucose dynamics in Thoroughbred mares. *Am. J. Vet. Res.* 72, 4–12.
- Girardi, A.M., Marques, L.C., Toledo, C.Z.P., Barbosa, J.C., Maldonado, W., Jorge, R.L.N., Nogueira, C.A. da S., 2014. Biochemical profile of the Pêga donkey (*Equus asinus*) breed: Influence of age and sex. *Comp. Clin. Path.* 23, 941–947. <https://doi.org/10.1007/s00580-013-1718-4>
- Jacobs, K. A., and J. R. Bolton. 1982. Effect of diet on the oral glucose tolerance test in the horse. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 180, 884-886.
- Jocelyn, N.A., Harris, P.A., Menzies-Gow, N.J., 2018. Effect of varying the dose of corn syrup on the insulin and glucose response to the oral sugar test. *Equine Veterinary Journal* 50, 836–841. <https://doi.org/10.1111/evj.12826>
- Knowles, E. J., Harris, P. A., Elliott, J., & Menzies-Gow, N. J., 2017. Use of the oral sugar test in ponies when performed with or without prior fasting. *Equine Veterinary Journal*, 49(4), 519–524. doi:10.1111/evj.12607
- Lindåse, S., Nostell, K., Askerfelt, I., Bröjer, J., 2016. A modified oral sugar test for evaluation of insulin and glucose dynamics in horses. *Acta Vet. Scand.* 58, 55-63. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-57-S1-O4>
- Martin-Gimenez, T., de Blas, I., Aguilera-Tejero, E., Diez de Castro, E., Aguirre-Pascasio, C.N., 2016a. Endocrine, morphometric, and ultrasonographic characterization of neck adiposity in Andalusian horses. *Domestic Animal Endocrinology* 56, 57–62. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2016.02.003>
- McFarlane, D., 2019. Diagnostic Testing for Equine Endocrine Diseases: Confirmation

Versus Confusion. *Vet. Clin. North Am. - Equine Pract.* 35, 327–338.

<https://doi.org/10.1016/j.cveq.2019.03.005>

McLean, A.K., Nielsen, B.D., Yokoyama, M., O'Connor-Robison, C.I., Hengemuehle, S., Wang, W., Geor, R., Harris, P.A., 2009. Insulin Resistance in Standard Donkeys (*Equus asinus*) of Three Body Conditions-Thin, Moderate, and Obese. *Journal of Equine Veterinary Science* 29, 406–407. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2009.04.106>

Mejia-Pereira, S., Perez-Ecija, A., Buchanan, B.R., Toribio, R.E., Mendoza, F.J., 2019. Evaluation of dynamic testing for pituitary pars intermedia dysfunction diagnosis in donkeys. *Equine Vet. J.* 51, 481–488. <https://doi.org/10.1111/evj.13034>

Mendoza, F.J., Aguilera-Aguilera, R., Gonzalez-De Cara, C.A., Toribio, R.E., Estepa, J.C., Perez-Ecija, A., 2015a. Characterization of the intravenous glucose tolerance test and the combined glucose-insulin test in donkeys. *Vet. J.* 206, 371–376. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.08.015>

Mendoza, F.J., Estepa, J.C., Gonzalez-De Cara, C.A., Aguilera-Aguilera, R., Toribio, R.E., Perez-Ecija, A., 2015b. Energy-related parameters and their association with age, gender, and morphometric measurements in healthy donkeys. *Vet. J.* 204, 201–207. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.03.004>

Mendoza, F. J., Gonzalez-Cara, C.A., Aguilera-Aguilera, R., Toribio, R.E., Perez-Ecija, A., 2018. Effect of intravenous glucose and combined glucose-insulin challenges on energy-regulating hormones concentrations in donkeys. *Vet. J.* 240, 40–46. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2018.09.002>

Mendoza, F.J., Mejia-Moreira, S., Buchanan, B.R., Toribio, R.E., Perez-Ecija, A., 2021a. Evaluation of the combined glucose-insulin and intravenous glucose tolerance tests for insulin dysregulation diagnosis in donkeys. *Equine Vet. J.* 1–10. <https://doi.org/10.1111/evj.13482>

Mendoza, F.J., Toribio, R.E., Perez-Ecija, A., 2018. Donkey Internal Medicine—Part I:

Metabolic, Endocrine, and Alimentary Tract Disturbances. *J. Equine Vet. Sci.* 65, 66–74.

<https://doi.org/10.1016/j.jevs.2018.02.001>

Mendoza, F.J., Toribio, R.E., Perez-Ecija, A., 2019. Metabolic and Endocrine Disorders in Donkeys. *Vet. Clin. North Am. - Equine Pract.* 35, 399–417.

<https://doi.org/10.1016/j.cveq.2019.07.001>

Mendoza, F. J., Buzon-Cuevas, A., Toribio, R. E., & Perez-Ecija, A. 2021b. Characterization of the oral glucose and sugar tolerance tests and the enteroinsular axis response in healthy adult donkeys. *Equine Vet J.* 1-10. <https://doi.org/10.1111/evj.13544>

Menzies-Gow, N.J., Wakeel, F., Little, H., Buil, J., Rickards, K., 2021. Cross-sectional study to identify the prevalence of and factors associated with laminitis in UK donkeys. *Equine Veterinary Journal.* <https://doi.org/10.1111/evj.13505>

Morgan, R.A., Keen, J.A., McGowan, C.M., 2016. Treatment of equine metabolic syndrome: A clinical case series. *Equine Vet. J.* 48, 422–426. <https://doi.org/10.1111/evj.12445>

Moser, K., Banse, H., 2019. Comparison of the glucose and insulin responses of horses to 2 formulations of corn syrup. *Can. Vet. J.* 60, 637–643.

Murphy, D., S. W. J. Reid, and S. Love. 1997. The effect of age and diet on the oral glucose tolerance test in ponies. *Equine veterinary journal* 29, 467-470.

Novello, G., Segabinazzi, L.G.T.M., Lisboa, F.P., Canuto, L.E., Freitas-Dell'Aqua, C.P., Dell'Aqua, J.A., Canisso, I.F., 2020. High or Low Body Fat Deposition in the Presence of a Normal Oral Sugar Test is Not Associated With Postthaw Semen Parameters in Stallions. *Journal of Equine Veterinary Science* 95. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2020.103271>

Pearson, R. A., & Ouassat, M. 2000. A guide to live weight estimation and body condition scoring of donkeys (No. 636.18 PEAg). Scotland: Centre for Tropical Veterinary Medicine, University of Edinburgh.

Perez-Ecija, A., Gonzalez-Cara, C., Aguilera-Aguilera, R., Toribio, R.E., Mendoza, F.J.,

2021. Energy hormone response to fasting-induced dyslipidemia in obese and non-obese donkeys. *Vet. J.* 271, 105652. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2021.105652>
- Pleasant, R.S., Suagee, J.K., Thatcher, C.D., Elvinger, F., Geor, R.J., 2013. Adiposity, plasma insulin, leptin, lipids, and oxidative stress in mature light breed horses. *J. Vet. Intern. Med.* 27, 576–582. <https://doi.org/10.1111/jvim.12056>
- Pritchard, A., Nielsen, B., McLean, A., Robison, C., Yokoyama, M., Hengemuehle, S., Bailey, S., Harris, P., 2019. Insulin Resistance as a Result of Body Condition Categorized as Thin, Moderate, and Obese in Domesticated U.S. Donkeys (*Equus asinus*). *J. Equine Vet. Sci.* 77, 31–35. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2019.02.011>
- Schultz, N., McCue, M., Martinson, N., Frank, N., & Geor, R., 2012. Characterization of the equine metabolic syndrome phenotype—part I: biochemistry, morphometrics and breed comparisons. *J Vet Intern Med*, 26, 767.
- Schuver, A., Frank, N., Chameroy, K.A., Elliott, S.B., 2014. Assessment of insulin and glucose dynamics by using an oral sugar test in horses. *J. Equine Vet. Sci.* 34, 465–470. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2013.09.006>
- Smith, S., Harris, P.A., Menzies-Gow, N.J., 2016. Comparison of the in-feed glucose test and the oral sugar test. *Equine Vet. J.* 48, 224–227. <https://doi.org/10.1111/evj.12413>
- Smyth, G. B., Young, D. W., & Hammond, L. S. 1989. Effects of diet and feeding on postprandial serum gastrin and insulin concentrations in adult horses. *Equine veterinary journal*, 21, 56-59.
- Thiemann, A. K., Buil, J., Rickards, K., & Sullivan, R. J. 2021. A review of laminitis in the donkey. *Equine Veterinary Education*.
- Van Den Wollenberg, L., Vandendriessche, V., van Maanen, K., Counotte, G.H.M., 2020. Comparison of Two Diagnostic Methods to Detect Insulin Dysregulation in Horses Under Field Conditions. *J. Equine Vet. Sci.* 88, 102954. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2020.102954>

APÊNDICE A - METODOLOGIA TESTE DE AÇÚCAR ORAL E COLHEITA DE AMOSTRAS

Animais:

Foram utilizadas 20 jumentas, 10 da raça Nordestina (G1) e 10 da raça Pêga (G2). Antes do teste os animais passaram por avaliação do estado geral e exame físico geral. No dia anterior às colheitas, ficavam em baia, com feno disponível durante a noite, para evitar a hiperlipemia (Figura 1).

Figura 1: Animais alojados em baia para realização das colheitas. Botucatu, 2021.



Fonte: O autor, 2021.

Teste de açúcar oral e colheita de amostras:

No dia das colheitas, os animais eram contidos com cabresto e recebiam o número de identificação (Figura 2). Cada animal possuía uma ficha de colheitas. A cada colheita, no tempo determinado, esta ficha era preenchida. Para cada animal, também ficavam separados, os tubos com fluoreto de sódio para mensuração da glicemia, e o tubo com fator ativador de coágulo para mensuração da insulina identificados com o tempo de colheita e número do animal, e tubos utilizados para descarte do sangue no início de cada punção. Cada animal possuía uma estante para os tubos, após a colheita de sangue, os tubos com fluoreto eram colocados imediatamente em caixa térmica com gelo seco (Figura 3).

Figura 2: Identificação dos animais com numeração no pescoço e garupa. A – jumenta da raça Nordestina identificada com o número 1. B – jumenta da raça Pêga identificada com o número 3.



Fonte: O autor, 2021

Figura 3: Materiais utilizados para realização das colheitas, Botucatu, 2021.



Fonte: o autor, 2021.

Após a identificação, era colhida a primeira amostra através de venopunção da jugular por coleta a vácuo (T0), em seguida era realizada a tricotomia, antisepsia e botão anestésico com lidocaína 2% sem vasoconstritor (0,3ml) (Lidovet ®; Laboratório Bravet Ltda., Rio de Janeiro, RJ, Brasil), para inserção do cateter (cateter 14G Safelet™, Nipor Medical Ltda., Sorocaba, SP, Brasil), após o cateter ser colocado na veia jugular, foi realizado um flush com 5ml de solução fisiológica e após 45 minutos, realizada uma nova colheita (M0), após descarte dos primeiros 3ml de sangue.

A partir do M0, todas as colheitas foram realizadas por meio do sistema a vácuo, com o auxílio de um adaptador PRN Luer Lock BD™ (Becton Dickinson Indústrias Cirúrgicas Ltda., Curitiba, PR, Brasil) colocado diretamente no cateter.

Após a colheita do M0, era administrado via oral o xarope de milho (YOKI®, General Mills Brasil Alimentos Ltda., Paranavaí, PR, Brasil) na dose de 0,15ml/Kg, com o auxílio uma seringa plástica de 60ml adaptada.

Em seguida da administração, as amostras para mensuração de glicose foram colhidas aos 5, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 120, 150, 180, 210 e 240 minutos, e as amostras para mensuração de insulina aos 5, 15, 45, 60, 75, 90, 120, 150 minutos. Para cada colheita, eram descartados inicialmente 3ml de sangue e em seguida realizada a coleta em tubo de fluoreto (5ml), e logo após em tubo sem anticoagulante (9ml) (Figura 5). Após cada colheita, foram infundidos 5ml de solução fisiológica (NaCl 0,9%) para lavagem do cateter.

Figura 5: Colheita de sangue através de cateter em jumento da raça Nordestina em tubo sem anticoagulante para mensuração de insulina.



Fonte: O autor, 2021.

Ao finalizar todas as colheitas, os tubos com fluoreto de sódio permaneciam sob refrigeração, os tubos sem anticoagulante eram mantidos à temperatura ambiente durante a colheita, aguardando pelo menos 20 minutos entre a última colheita e a centrifugação. A centrifugação foi realizada por 10 minutos a 3.500 g. Após a centrifugação, as amostras foram separadas em duas alíquotas e congeladas para posterior mensuração de glicose e insulina (Figura 6).

Figura 6: Amostras após a centrifugação, cada amostra recebia a identificação do animal e do momento da colheita.



Fonte: O autor, 2021.

Avaliação e Mensurações Morfométricas

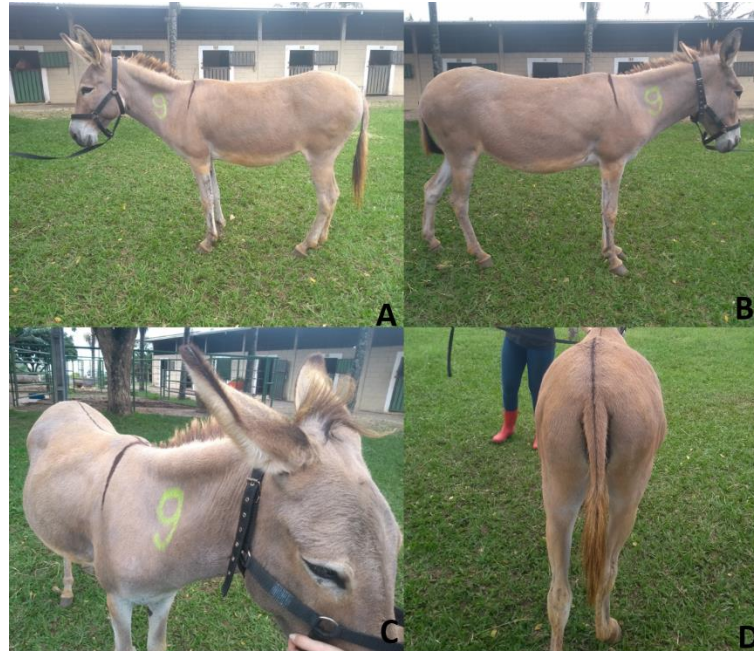
Cada animal possuía ficha para avaliação corporal, contendo sua localização, raça, idade, tipo de atividade desempenhada, tipo de alimentação, alojamento, histórico de queixas anteriores e exame físico geral. Também foram avaliados o Escore de Condição Corporal (ECC) e Escore de Cernelha (EC), de acordo com Pearson e Ouassat, (2000) e Mendoza, (2015b) respectivamente.

Mensurações de altura da cernelha, comprimento do corpo, circunferência abdominal, circunferência do pescoço (mensurada no ponto médio do pescoço), comprimento do pescoço, circunferência torácica e altura da crista do pescoço foram realizadas através de fita métrica. As mensurações do pescoço foram realizadas com o animal em posição quadrupedal de descanso em um ângulo de aproximadamente 45°.

Também era avaliada a presença de tecido adiposo subcutâneo na região da cernelha, escápula e base da cauda. O peso dos indivíduos dos grupos G1 e G2, foi mensurado através do cálculo $\text{Peso (kg)} = [(\text{circunferência torácica (cm)}^{2.12}) \times (\text{comprimento do corpo (cm)}^{0.688}) \div 3801]$, de acordo com Pearson e Ouassat, (2000), que foi utilizado para o cálculo da dose de xarope.

Foi realizado o registro fotográfico dos animais, para avaliação do escore corporal, e presença de tecido adiposo na região da cernelha, base da cauda e escápula (Figura 7 e 8).

Figura 7: Avaliação jumenta Nordestina. A e B: vista lateral em posição quadrupedal. C: vista cranial para visualização de tecido adiposo em cernelha. D: Vista caudal para avaliação de tecido adiposo em base da cauda.



Fonte: O autor, 2021.

Figura 8: Jumenta da raça Pêga. A e B: vista lateral em posição quadrupedal. C: vista cranial para avaliação de tecido adiposo em cernelha. D: Vista caudal para avaliação de tecido adiposo em base da cauda.



Fonte: O autor, 2021.