

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
CÂMPUS DE ARAÇATUBA

**ESTRESSE OXIDATIVO SISTÊMICO NA OBESIDADE
CANINA**

Gabriela Quideroli Issa
Fisioterapeuta

ARAÇATUBA – SP
2015

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
CÂMPUS DE ARAÇATUBA

**ESTRESSE OXIDATIVO SISTÊMICO NA OBESIDADE
CANINA**

Gabriela Quideroli Issa
Orientador: Profº Adjunto Paulo César Ciarlini
Co-orientador: Profº Adjunto Mário Jefferson Quirino Louzada

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária – Unesp, Campus de Araçatuba, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal (Fisiopatologia Médica e Cirúrgica).

ARAÇATUBA – SP

2015

Catálogo na Publicação(CIP)
Serviço de Biblioteca e Documentação – FMVA/UNESP

Issa, Gabriela Quideroli

Is74e

Estresse oxidativo sistêmico na obesidade canina. /
Gabriela Quideroli Issa.
Araçatuba: [s.n], 2015
40 f. il.; CD-ROM

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Medicina Veterinária, 2015

Orientador: Prof. Adjunto Paulo Cesar Ciarlini
Co-orientador: Mário Jefferson Quirino Louzada

1. Obesidade em Medicina Veterinária. 2. Cão. 3.Oxidantes 4.
Antioxidantes. 5. Peroxidação de Lipídeos. I. T.

CDD: 636.0896398



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Araçatuba
Seção Técnica de Graduação e Pós-Graduação



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: Estresse oxidativo sistêmico na obesidade canina.

AUTORA: GABRIELA QUIDEROLI ISSA

ORIENTADOR: Dr. PAULO CÉSAR CIARLINI


Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRA em CIÊNCIA ANIMAL (FISIOPATOLOGIA MÉDICA E CIRÚRGICA) pela Comissão Examinadora.


Dr. FABIANO ANTONIO CADIOLI


Dr. AUREO EVANGELISTA-SANTANA


Dr. PAULO CÉSAR CIARLINI

DATA DA REALIZAÇÃO: 9 de setembro de 2015.



Presidente da Comissão Examinadora
Dr. PAULO CÉSAR CIARLINI
- Orientador -

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

GABRIELA QUIDEROLI ISSA – Natural de Birigui, São Paulo, nascida em 25 de julho de 1989, filha de Dagoberto de Carvalho Issa e Maria Aparecida Quideroli Issa. Em 2007, ingressou no curso de Fisioterapia na Faculdade UniSalesiano, Araçatuba - SP, onde se graduou como fisioterapeuta em 2010 com Trabalho de Conclusão de Curso intitulado “A Incidência de Pacientes Portadores de Acidente Vascular Encefálico na Clínica de Fisioterapia do Unisalesiano de Araçatuba”. Em 2011, ingressou no curso de Pós-Graduação Lato Sensu em Nível de Especialização em Fisioterapia Aplicada a Dermatologia Funcional, UniJales, Jales – SP com Trabalho de Conclusão intitulado “A Utilização da Carboxiterapia como Recurso Estético na Atenuação das Estrias Atróficas”. Ingressou no curso de Pós-graduação em Ciência Animal, área de concentração Fisiopatologia Médica e Cirúrgica, na Faculdade de Medicina Veterinária, UNESP, *Campus* de Araçatuba – SP (FMVA), em Agosto de 2013, sob orientação do Prof^o. Adjunto Paulo César Ciarlini, obtendo bolsa de mestrado vinculada à CAPES. Desde então tem participado dos Projetos de Pesquisa do grupo com os temas relacionados ao estresse oxidativo e metabolismo oxidativo.

“Grandes realizações não são feitas por impulso, mais por uma soma de pequenas realizações.”

(Vincent Van Gogh)

AGRADECIMENTOS

Principalmente a Deus por sempre guiar, proteger e orientar minha vida, por me proporcionar oportunidades inesquecíveis.

Aos meus pais Dagoberto e Maria, pelo amor e carinho que recebo todos os dias e por acreditar na minha capacidade. A minha irmã Ana Carolina pelo apoio, incentivo e carinho.

Aos meus avós Jaci, Jamil, Geraldo, Nair (in memória), todo o meu amor e gratidão.

A toda minha família que de alguma maneira esteve ao meu lado me apoiando.

A minha ex-professora Carolina Vicentini, pelos ensinamentos e pelo incentivo à realização do mestrado.

Ao meu orientador de mestrado, Prof^o Adjunto Paulo César Ciarlini, pela paciência, pelos ensinamentos, pelo comprometimento com a minha orientação, pela honestidade e ética no trabalho.

Ao meu co-orientador, Prof^o Adjunto Mário Jefferson Quirino Louzada, pela gentileza e por ter me aceito nessa nova jornada.

Ao João Pedro Borges Barbosa, pelas palavras de incentivo, pelo carinho e pelo companheirismo durante essa fase final.

Aos amigos do Laboratório Clínico Veterinário do Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal: Luciana de Moraes, Lillian Baptistioli, Rafaela Pintor, Priscila Preve, Mirtes da Silva, Daniela Matono, Taiana Valadares e Laine Gabas. Em especial, Anelise Maria Bosco pelas orientações e ensinamentos que foram essenciais para finalização desse trabalho.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela concessão da bolsa de mestrado durante o primeiro ano do curso.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, pela oportunidade oferecida para a realização do curso de Mestrado.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram na execução dessa pesquisa, sem vocês nada disso seria possível!

Meus sinceros agradecimentos!

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	13
1 Introdução	13
2 Obesidade canina	13
3 Estresse oxidativo em cães obesos	15
REFERÊNCIAS.....	17
CAPÍTULO 2 – ESTRESSE OXIDATIVO EM CÃES OBESOS.....	24
1 INTRODUÇÃO.....	26
2 MATERIAL E MÉTODO.....	27
2.1 Delineamento experimental.....	27
2.2 Seleção dos animais.....	28
2.3 Obtenção das amostras.....	28
2.4 Análise estatística.....	30
3 RESULTADOS.....	30
4 DISCUSSÃO.....	32
5 CONCLUSÃO.....	35
6 REFERÊNCIAS.....	35

ESTRESSE OXIDATIVO SISTÊMICO NA OBESIDADE CANINA

RESUMO - A obesidade é uma doença nutricional cada vez mais comum em animais de companhia, cuja prevalência já atinge proporções epidêmicas. Este distúrbio tem sido associado com diversas enfermidades, afetando a qualidade de vida e reduzindo a longevidade dos animais. Em humanos já se sabe que a obesidade está fortemente associada ao aumento do estresse oxidativo. Foi realizada uma revisão bibliográfica sobre o estresse oxidativo em cães obesos, utilizando-se dois bancos de dados (Portal CAPES e PubMed), tendo sido localizado apenas dois estudos experimentais na espécie canina que não comprovam o estresse oxidativo já descrito em humanos. Neste sentido foi realizado estudo observacional transversal com controle para confirmar a nossa hipótese de que a obesidade canina causa estresse oxidativo sistêmico. Para tal, um grupo controle constituído de 19 cães saudáveis (escore corporal de 4 a 5) foi comparado com um grupo constituído de 25 cães obesos (escore corporal de 8 e 9). De ambos os grupos foram mensurados os marcadores de estresse oxidativo plasmático (índice de estresse oxidativo (IEO), concentração oxidante total (TOC), capacidade antioxidante total, peroxidação lipídica, ácido úrico, albumina e gamaglutamil transferase). Foi possível comprovar que ocorre aumento do estresse oxidativo sistêmico na obesidade canina, caracterizado pelo aumento da peroxidação lipídica e do IEO associado a maior concentração de TOC.

Palavras chaves: cães, oxidantes, antioxidantes, peroxidação de lipídeos

SYSTEMIC OXIDATIVE STRESS IN CANINE OBESITY

SUMMARY- Obesity is a nutritional disease becoming more common in small animals, whose prevalence has reached epidemic proportions. This disorder has been associated with various diseases, affecting the quality of life and reducing the longevity of animals. In humans it is known that obesity is strongly associated with increased oxidative stress. A literature review on oxidative stress in obese dogs was conducted using two databases (CAPES Portal and PubMed) and was located just two experimental study in dogs that did not prove oxidative stress been described in humans. In this sense was a cross-sectional observational study with control to confirm our hiopótese that canine obesity causes sitêmico oxidative stress. For such a control group consisting of 19 healthy dogs (body condition score of 4 to 5) was compared to a group consisting of 25 obese dogs (body condition score of 8 and 9). Of both groups were measured the plasma oxidative stress markers (oxidative stress index (OSI), total oxidant concentration (TOC), total antioxidant capacity, lipid peroxidation, uric acid, albumin and gamma glutamyl transferase). t was possible to prove that there is an increase of systemic oxidative stress in canine obesity, characterized by increased lipid peroxidation and IEO associated with a higher concentration of TOC.

Key words: dogs, oxidants, antioxidants, lipid peroxidation

Capítulo 1

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1 Introdução

A prevalência da obesidade em cães, como nos seres humanos vem aumentando, atingindo 41% da população canina na Austrália (MCGREEVY et al., 2005). Embora seja considerada uma doença nutricional, outros fatores podem predispor o cão ao excesso de peso, sendo a raça, sexo, idade, fatores genéticos, atividade física e densidade energética da dieta (BLAND et al., 2009; GERMAN, 2006). A obesidade tem sido associada ao aumento da morbidade e mortalidade, com maior incidência de doenças cardíacas, hipertensão (MONTROYA et al., 2006), diabetes, dislipidemias e osteoartrites (IMPELLIZERI et al., 2000).

O estresse oxidativo é um desequilíbrio entre a produção de oxidantes e as defesas antioxidantes do organismo (PEAKE; SUZUKI, 2004), sendo que a produção exagerada e contínua de oxidantes consome as defesas antioxidantes, causando aumento da peroxidação lipídica e dano celular (ZAMZAMI et al., 1996).

Consideramos que é fundamental confirmar se a obesidade causa estresse oxidativo sistêmico em cães e dessa maneira contribuir para orientar novas estratégias de prevenção das doenças sistêmicas associadas a este distúrbio nutricional.

2 Obesidade canina

A obesidade é caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura corporal (KOPELMAN, 2000), tal como no homem, a incidência de obesidade em animais tende a aumentar, sendo considerada a doença nutricional mais comum na espécie canina (BLAND et al., 2009), embora seja considerada uma doença essencialmente nutricional, outros fatores podem predispor o cão ao excesso de peso como a raça, idade, sexo, fatores genéticos, atividade física e densidade energética da dieta (CARCIOFI et al., 2005; DIEZ; NGUYEN, 2006; GERMAN, 2006). Cães de meia idade a velhos são os mais predispostos, com prevalência entre 5 a 10 anos (DIEZ; NGUYEN, 2006; LAFLAMME, 2006). A castração é um importante fator de risco para

a obesidade em cães, possivelmente devido à diminuição da taxa metabólica basal após a gonadectomia, aumento da ingestão de alimentos e também pelo consequente sedentarismo, sendo as fêmeas castradas mais predispostas do que os machos castrados ao ganho excessivo de peso (DIEZ; NGUYEN, 2006; GERMAN, 2006). Fatores dietéticos como a alta densidade energética, número de refeições, quantidade de alimento oferecido, fornecimento de sobras de mesa e petiscos também apresentam estreita relação com a obesidade (GERMAN, 2006). O nutriente que mais eleva o teor energético e a palatabilidade das rações é a gordura, que, por sua vez, é mais bem digerida, utilizada e estocada que os carboidratos e proteínas (ROLLS, 2000). A obesidade também pode estar associada a distúrbios endócrinos, tais como, hipotireoidismo, hiperadrenocorticismos, porém esses distúrbios endócrinos respondem apenas por 5% da população obesa em cães e gatos (BORGES; NUNES, 1998; MORGANTE, 1999).

A prevalência de cães sobrepeso e obeso alcança a taxa de 41% na população canina (MCGREEVY et al., 2005), sendo associada ao aumento da morbidade e mortalidade (IMPELLIZERI et al., 2000; MONTOYA et al., 2006).

Existem vários métodos para avaliar composição corporal como absormetria de raios X de energia dupla (DEXA), tomografia computadorizada, ressonância magnética, ultrasonografia, índice de massa corporal (IMC), bioimpedância e escore de condição corporal (ECC), alguns destes, que são de custo mais baixo, já estão sendo utilizados na rotina clínica da medicina veterinária.

O tecido adiposo é considerado um novo órgão endócrino, conhecido por expressar e secretar uma variedade de péptidos bioativos, conhecida como adipocitoquinas, que atuam tanto no local (autócrino / parácrino) e nível sistêmico (endócrino). Assim, além do repertório biológico necessário para armazenar e liberar energia, o tecido adiposo contém a maquinaria metabólica para permitir a comunicação com órgãos distantes, incluindo o SNC (KERSHAW; FLIER, 2004).

As consequências do excesso de peso sobre a saúde dos cães é bastante preocupante, implicando um transtorno prejudicial na saúde deste.

3 Estresse oxidativo em cães obesos

A produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), entre outras espécies reativas, é parte integrante do metabolismo humano e é observada em diversas condições fisiológicas. ERO têm importante função biológica, como na fagocitose, fenômeno em que essas espécies são produzidas para eliminar o agente agressor. Por outro lado, quando ocorre uma produção exacerbada, o organismo dispõe de um eficiente sistema antioxidante que consegue controlar e restabelecer o equilíbrio (PENDYALA et al., 2008).

Porém quando há um desequilíbrio entre as defesas antioxidante e a produção de oxidante, ocorre o quadro de estresse oxidativo (KAO et al., 2010).

O estresse oxidativo pode comprometer a função celular (REUTER et al., 2010), além de estar envolvido na patogenia de doenças como anemia hemolítica FIBACH ; RACHMILEWITZ, 2008), alterações de reperfusão teciduais (PARK; LUCCHESI, 1999) e possuir potencial carcinogênico (WEINBERG; CHANDEL, 2009).

Ferreira et al. (2011) revisaram o impacto do estresse oxidativo na patogênese da síndrome metabólica (SM) da obesidade que se caracteriza pela resistência insulínica, alterações na insulina, hiperglicemia, disfunção endotelial, dislipidemia e obesidade. Segundo estes autores, em ratos com SM a resistência insulínica está associada ao estresse oxidativo devido à maior lipoperoxidação gerada pela produção exagerada do peroxinitrito, um derivado do superóxido.

Pouco se sabe sobre os mecanismos responsáveis pelo estresse oxidativo na obesidade canina e quais as relações do status antioxidante com a doença. A obesidade canina tem sido objeto de várias investigações, porém ainda são escassos trabalhos que se refere ao estresse oxidativo nesta espécie.

Nessa espécie Van de Velde et al. (2012) observaram que a obesidade experimentalmente induzida não altera a capacidade antioxidante total (TAC). Já em humanos obesos o quadro de estresse oxidativo está bem estabelecido, ficando evidente uma diminuição da TAC (CĂTOI et al., 2013; PIRGON et al., 2013) e em

roedores também observou-se uma falha capacidade antioxidante (BELTOWSKI et al., 2000; FURUKAWA et al., 2004).

O antioxidante endógeno GGT, é controverso na obesidade, esta enzima foi fortemente associada com a obesidade canina (TRIBUDDHARATANA et al., 2011) e em humanos associada à gordura corporal total (CHOI et al., 2003).

Há relatos de que o emagrecimento causa diminuição da albumina sanguínea, entretanto os valores de cães obesos permaneceram dentro da faixa normalidade da espécie (FORSTER et al., 2012; GERMAN et al., 2009; YAMK et al., 2006; YAMK et al., 2007).

O AU é um poderoso sequestrador de radicais livres e fornece 60% da capacidade antioxidante do plasma humano (AMES et al., 1981). A alta concentração de AU no soro foi associada á obesidade humana (ABDUL-MAJEED, 2009) e em roedores (TSUSHUMA et al., 2013). As alterações do perfil bioquímico de cães obesos foi escassamente investigado (FORSTER et al., 2012; GERMAN et al., 2009; TRIBUDDHARATANA et al., 2011), entretanto a associação entre o AU plasmático e a obesidade nesta espécie ainda não foi determinada.

Os principais alvos das ERO são as gorduras poli-insaturadas das membranas celulares, o que resulta na peroxidação lipídica e consequente danos na estrutura e função das células (ESTERBAUER et al., 1993). O TBARS é um indicador indireto dessa oxidação empregado para quantificar o aumento do estresse oxidativo. Na obesidade humana (KONUKOGLU et al., 2006; OZATA et al., 2002); e roedores (BELTOWSKI et al., 2000; FURUKAWA et al., 2004) esse aumento foi evidente, sendo divergente na obesidade canina, o aumento de TBARS não foi observado em cães submetidos a uma dieta de engorda por um curto período de tempo (VAN DE VELDE et al., 2012).

O IEO é considerado o marcador mais sensível quando comparado à análise individual de outros marcadores de estresse (AYCICEK et al., 2005). Estudos em humanos (CĂTOI et al., 2013; PIRGON et al., 2013) e ratos (BELTOWSKI et al., 2000, FURUKAWA et al., 2004) investigaram o estresse oxidativo causado pela obesidade, entretanto apenas Pirgon et al. (2013) quantificaram IEO e confirmaram que este índice aumenta em pessoas obesas com e sem comprometimento hepático

devido a um aumento de TOC e diminuição de TAC. Até então não há registros de estudos que tenham quantificado o IEO em cães obesos.

Existe uma gama de métodos para avaliação do estresse oxidativo, sendo necessário utilizar mais de um marcador, pois a alteração de um pode mascarar o resultado do outro parâmetro. Desta forma o IEO é um novo parâmetro sugerido para mostrar o nível de estresse nas doenças sistêmicas, considerado mais vantajoso na determinação do estresse oxidativo em comparação a outros parâmetros. Este marcador proposto por Aycicek et al. (2005) é mensurado com a relação TOC/TAC, sendo considerado pelos autores como um marcador mais sensível, porém apenas um estudo em humanos obesos foi encontrado (PIRGON et al., 2013). Neste estudo verificou o aumento do índice de estresse oxidativo demonstrando que a relação TOC/TAC pode ser utilizada como um parâmetro de diagnóstico para determinar o aumento do estresse oxidativo na presença da obesidade (PIRGON et al.,2013).

A importância clínica desta revisão foi verificar que o estresse oxidativo é um importante mecanismo na obesidade canina e está associado ao dano de vários órgãos. Além disso, a obesidade em humanos está relacionada com maior risco de desenvolver outras doenças inflamatórias sistêmicas crônicas, como doenças cardiovasculares, diabetes, câncer e osteoporose (KOPELMAN, 2000). Porém, tais observações foram feitas em humanos, sendo necessários mais estudos na medicina veterinária para obter os mesmos resultados.

REFERÊNCIAS

ABDUL-MAJEED, A.A. Relationship Between Uric Acid and Obesity. **Al-Anbar Medical Journal** v.7, n.1, p.19-23, 2009.

AMES, B.N.; CATHCART, R.; SCHWIERS, E.; HOCHSTEIN, P. Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant- and radical-caused aging and cancer: a hypothesis. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.78, p.6858-6862, 1981.

AYCICEK, A.; EREL, O.; KOCYIGIT, A. Decreased total antioxidant capacity and increased oxidative stress in passive smoker infants and their mothers. **Pediatrics International**, v.47, n. 6, p.635-639, 2005.

BEŁTOWSKI, J.; WÓJCICKA, G.; GÓRNY, D.; MARCINIAK, A. The effect of dietary-induced obesity on lipid peroxidation, antioxidant enzymes and total plasma antioxidant capacity. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v.51, n. 4 pt 2, p.883-896, 2000.

BLAND, I.M.; GUTHRIE-JONES, A.; TAYLOR, R.D.; HILL, J. Dog obesity: owner attitudes and behaviour. **Preventive Veterinary Medicine**, v.92, p.333-340, 2009.

BORGES, F.M. DE O.; NUNES, I. J. Nutrição e manejo alimentar de cães na saúde e na doença. **Cadernos Técnicos da Escola de Veterinária da UFMG**, n. 23, p. 5 - 103, 1998.

CARCIOFI, A. C.; GONÇALVES, K. N. V.; VASCONCELLOS, R. S.; BAZOLLI R. S.; BRUNETTO, M. A.; PRADA, F. A weight loss protocol and owners' participation in the treatment of canine obesity. **Ciência Rural**, v. 35, n. 6, p. 1331-1338, 2005.

CĂTOI, A.F.; PÂRVU, A.; GALEA, R.F.; POP, I.D.; MUREȘAN, A.; CĂTOI, C. Nitric oxide, oxidant status and antioxidant response in morbidly obese patients: the impact of 1-year surgical weight loss. **Obesity Surgery journal**, v.23, n. 11, p.1858-1863, 2013.

CHOI, J.W. Association between elevated serum hepatic enzyme activity and total body fat in obese humans. **Annals of Clinical & Laboratory Science**, v.33, n.3, p.257-264, 2003.

DIEZ, M.; NGUYEN, P. Obesity: epidemiology, pathophysiology and management of the obese dog. In: PICOT, P.; BIOURGC, V.; ELLIOTT, D.; **Encyclopedia of Canine Clinical Nutrition**. Paris. Hardcer, 2006, p.2-25.

ESTERBAUER, H.; WÄG, G.; PUHL, H. Lipid peroxidation and its role in atherosclerosis. **British Medical Bulletin**, v.49, n.3, p.566-576, 1993.

FERREIRA, A. L. A.; CORREA, C. R.; FREIRE, C. M. M. Síndrome metabólica: atualização de critérios diagnósticos e impacto do estresse oxidativo na patogênese. **Revista Brasileira de Clínica Medica**, v.9, n.1, p.54-61, 2011.

FIBACH, E.; RACHMILEWITZ, E. The role of oxidative stress in hemolytic anemia. **Current Molecular Medicine**, v.8, n.7, p.609-619, 2008.

FORSTER, G.M.; OLLILA, C.A.; BURTON, J.H. HILL, D.; BAUER, J.E.; HESS, A.M. Nutritional weight loss therapy with cooked bean powders regulate serum lipids and biochemical analytes in overweight and obese dogs. **Obesity and Weight Loss Therapy**, v.2, p.2, 2012.

FURUKAWA, S.; FUJITA, T.; SHIMABUKURO, M.; IWAKI, M.; YAMADA, Y.; NAKAJIMA, Y.; NAKAYAMA, O.; MAKISHIMA, M.; MATSUDA, M.; SHIMOMURA, I. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. **Journal of Clinical Investigation**, v.114, p.1752-1761, 2004.

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

GERMAN, A.J.; HERVERA, M.; HUNTER, L.; HOLDEN, S. L.; MORRIS, P. J.; BIOURGE, V.; TRAYHURN, P. Improvement in insulin resistance and reduction in plasma inflammatory adipokines after weight loss in obese dogs. **Domestic Animal Endocrinology**, v.37, n.4, p.214-226, 2009.

IMPELLIZERI, J. A.; TETRICK, M. A.; MUIR, P. Effect of weight reduction on clinical signs of lameness in dogs with hip osteoarthritis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.216, n.7, p.1089-1091, 2000.

KAO, M.P.C.; ANG, D.S.; PALL, A.; STRUTHER, A. D. Oxidative stress in renal dysfunction: mechanisms, clinical sequelae and therapeutic options. **Journal of Human Hypertension**, v.24, n. 1 p.1-8, 2010.

KERSHAW E. E.; FLIER J.S. Adipose tissue as an endocrine organ. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v.89, n.6, p.2548–2556, 2004.

KONUKOGLU, D.; SERIN, O.; TURHAN, M.S. Plasma leptin and its relationship with lipid peroxidation and nitric oxide in obese female patients with or without hypertension. **Archives of Medical Research**, v.37, p.602-606, 2006.

KOPELMAN, P.G. Obesity as a medical problem. **Nature**, v. 404, p.635-643, 2000.

LAFLAMME, D.P. Understanding and managing obesity in dogs and cats. **Veterinary Clinics of the North America**, v.36, p.1283-1295, 2006.

MCGREEVY, P.D.; THOMSON, P.C.; PRIDE, C.; FAWCETT, A.; GRASSI, T.; JONES, B. Prevalence of obesity in dogs examined by Australian veterinary practices and the risk factors involved. **Veterinary Record**, v.156, p.695-702, 2005.

MONTOYA, J. A.; MORRIS, P.J.; BAUTISTA, I.; JUSTE, M.C.; SUAREZ, L.; PEÑA, C.; HACKETT, R.M.; RAWLINGS, J. Hypertension: a risk factor associated with weight status in dogs. **The Journal of nutrition**, v.136, n.7, p.2011S-2013S, 2006.

MORGANTE, M. Obesità negli animali da compagnia: problema emergente. **Praxis Veterinaria**, v. 20, n. 2, p.18-22, 1999.

OZATA, M.; MERGEN, M.; OKTENLI, C. AYDIN, A.; SANISOGLU, S.Y.; BOLU, E.; YILMAZ, M.I.; SAYAL, A.; ISIMER, A.; OZDEMIR, I.C. Increased oxidative stress and hypozincemia in male obesity. **Clinical Biochemistry**, v.35, p.627-631, 2002.

PARK, J.L.; LUCCHESI, B.R. Mechanisms of myocardial reperfusion injury. **Annals of Thoracic Surgery**, v.68, n.5, p.1905-1912, 1999.

PEAKE, J.; SUZUKI, K. Neutrophil activation, antioxidant supplements and exercise-induced oxidative stress. **Exercise Immunology Review**, v.10, p.129-141, 2004.

PENDYALA, G.I.; THOMAS, B.; KUMARI, S. The challenge of antioxidants to free radicals in periodontitis. **Journal of Indian Society of Periodontology**, v.12, n.3, p.79, 2008.

PIRGON, Ö.; BILGIN, H.; ÇEKMEZ, F.; KURKU, H.; DÜNDAR, B.N. Association between insulin resistance and oxidative stress parameters in obese adolescents with non-alcoholic fatty liver disease. **Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology**, v.5, p.33-39, 2013.

REUTER, S.; GUPTA, S.C.; CHATURVEDI, M.M.; AGGARWAL, B.B. Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? **Free Radical Biology & Medicine**, v.49, n.11, p.1603-1616, 2010.

ROLLS, B.J. The role of energy density in the overconsumption of fat. **Journal of Nutrition**, v.130, p.268S-271S, 2000.

TRIBUDDHARATANA, T.; KONGPIROMCHEAN, Y.; SRIBHEN, K.; SRIBHEN, C. Biochemical Alterations and Their Relationships with the Metabolic Syndrome Components in Canine Obesity. **Natural science**, v.45, p.622-628, 2011.

TSUSHIMA, Y.; NISHIZAWA, H.; TOCHINO, Y.; NAKATSUJI, H.; SEKIMOTO, R.; NAGAO, H.; SHIRAKURA, T.; KATO, K.; IMAIZUMI, K. ; TAKAHASHI, H.; TAMURA, M.; MAEDA, M.; FUNAHASHI, T.; SHIMOMURA, I. Uric acid secretion from adipose tissue and its increase in obesity. **The Journal of Biological Chemistry**, v.288, p.27138-27149, 2013.

VAN DE VELDE, H.; JANSSENS, G.P.; STUYVEN, E.; COX, E.; BUYSE, J.; HESTA, M. Short-term increase of body weight triggers immunological variables in dogs. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.145, p.431-437, 2012.

WEINBERG, F.; CHANDEL, N.S. Reactive oxygen species-dependent signaling regulates cancer. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v.66, n.23, p.3663-3673, 2009.

YAMKA, R.M.; FRANTZ, N.Z.; FRIESEN, K.G. Effects of 3 canine weight loss foods on body composition and obesity markers. **International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine**, v.5, p.125, 2007.

YAMKA, R.M.; FRIESEN, K.G.; FRANTZ, N.Z. Identification of canine markers related to obesity and the effects of weight loss on the markers of interest. **International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine**, v.4, p.282, 2006.

ZAMZAMI, N.; MARCHETTI, P.; CASTEDO, M.; HIRSCH, T.; SUSIN, S.A.; MASSE, B.; KROEMER, G. Inhibitors of permeability transition interfere with the disruption of the mitochondrial transmembrane potential during apoptosis. **Febs lett**, v.384, p.53-57, 1996.

Capítulo 2

CAPÍTULO 2 - ESTRESSE OXIDATIVO SISTÊMICO NA OBESIDADE CANINA

G. Q. Issa¹, A. M. Bosco¹, R. B. P. Torrecilha¹, D. Matono¹, L. Morais, P. C. Ciarlini¹

RESUMO - A obesidade é uma doença nutricional cada vez mais comum em animais de companhia, cuja prevalência já atinge proporções epidêmicas. Este distúrbio tem sido associado com o estresse oxidativo e diversas outras enfermidades nos seres humanos, porém não em cães. Nós investigamos a hipótese de que o estresse oxidativo sistêmico ocorre na obesidade canina. Para tal, um Grupo controle (n=19) de cães saudáveis (escore corporal 4 e 5) foi comparado com um Grupo obeso (n=25) de cães com escore corporal 8 e 9. De ambos os grupos foram mensuradas as concentrações de marcadores plasmáticos de estresse oxidativo (índice de estresse oxidativo (IEO), concentração oxidante total (TOC), capacidade antioxidante total (TAC), peroxidação lipídica, ácido úrico, albumina e gamaglutamil tranferase). Os cães obesos apresentaram maior IEO (p=0.0037), resultante da maior TOC plasmática (p=0.0063). O estresse oxidativo sistêmico dos cães obesos também foi caracterizado por uma maior peroxidação lipídica plasmática estimada pelo aumento de TBARS (p=0.0137). O ácido úrico foi o único antioxidante endógeno mensurado que aumentou significativamente nos cães com obesos (p=0.0003), entretanto esta alteração não promoveu aumento significativo da TAC (p=0.9373). Esta é provavelmente a primeira evidência de que a obesidade canina causa um estresse oxidativo sistêmico. Outras investigações são necessárias para avaliar o significado desse achado, em especial avaliar se este estresse oxidativo sistêmico está associado às complicações comumente relatadas em cães obesos.

Palavras chaves: cães, oxidantes, antioxidantes, peroxidação de lipídeos

SYSTEMIC OXIDATIVE STRESS IN CANINE OBESITY

ABSTRACT – Obesity is a nutritional disease that is increasingly common in small animals, while its prevalence has reached epidemic proportions. This disorder has been associated with oxidative stress and numerous other diseases in humans, but not in dogs. We investigated the hypothesis that systemic oxidative stress occurs in canine obesity. To achieve this, a control group (n=19) of healthy dogs (body score, 4 and 5) was compared with an obese group (n=25) with body scores of 8 and 9. In both groups, we measured the concentrations of plasma markers for oxidative stress (oxidative stress index, OSi), total oxidant concentration (TOC), total antioxidant capacity (TAC), lipid peroxidation (Thiobarbituric acid reactive substances, TBARS), uric acid, albumin and gamma-glutamyl transferase. Obese dogs had higher OSi values (p=0.0037) resulting in higher plasma TOC (p=0.0063). Systemic oxidative stress in obese dogs was also characterized by increased plasma lipid peroxidation, estimated by the increase in TBARS (p=0.0137). Uric acid was the only endogenous antioxidant measured that increased significantly in dogs with obesity (p=0.0003); however, this change did not promote a significant increase in TAC (p=0.9373). To our knowledge, this is the first evidence that canine obesity causes systemic oxidative stress. Further research is required to assess the significance of this finding, particularly focusing on whether the systemic oxidative stress is associated with complications commonly reported in obese dogs.

Keywords: dogs, oxidants, antioxidants, lipid peroxidation

1 Introdução

A obesidade é caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura corporal (KOPELMAN, 2000), sendo considerada a doença nutricional mais comum na espécie canina (BLAND et al., 2009). A prevalência de cães sobrepeso e obeso atinge 41% da população canina (MCGREEVY et al., 2005). Nesta espécie a obesidade tem sido associada ao aumento da mortalidade e maior incidência de doenças cardíacas, diabetes, dislipidemias e osteoartrites (GERMAN, 2006).

O estresse oxidativo é um desequilíbrio entre a produção de oxidantes e as defesas antioxidantes do organismo (PEAKE; SUZUKI, 2004), sendo que grande parte dos oxidantes derivam dos neutrófilos ativados por citocinas pró-inflamatórias (NATHAN, 2006). A produção exagerada e contínua de oxidantes consome as defesas antioxidantes, causando aumento da peroxidação lipídica e dano celular (ZAMZAMI et al., 1996). Sendo que na obesidade, o estresse oxidativo já foi observado em humanos (CĂTOI et al., 2013; PIRGON et al., 2013; WANG et al., 2014) e ratos (BEŁTOWSKI et al., 2000; FURUKAWA et al., 2004).

Na obesidade humana, a capacidade antioxidante diminui independentemente da idade e estilo de vida (CHRYSOHOOU et al., 2007), sendo que o ganho de peso aumenta a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) (CĂTOI et al., 2013; SKALICKY et al., 2008). Este aumento de ERO tem sido associado ao aumento de peroxidação lipídica (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico- TBARS), um indicador indireto de oxidação que tem sido empregado para comprovar o aumento do estresse oxidativo na obesidade humana (KONUKOGLU et al., 2006; OZATA et al., 2002) e ratos (BEŁTOWSKI et al., 2000; FURUKAWA et al., 2004). Em cães submetidos à dieta de ganho de peso não foi observado aumento de TBARS (VAN DE VELDE et al., 2012).

Os estudos sobre as alterações dos marcadores de estresse oxidativo de cães obesos são escassos e contraditórios. O ácido úrico (AU) fornece 60%

da capacidade antioxidante do plasma (AMES et al., 1981) e tem sido associado à obesidade humana (ABDUL-MAJEED 2009) e de ratos (TSUSHIMA et al., 2013). A associação entre o AU plasmático e a obesidade canina ainda não foi determinada. Já a atividade da gama-glutamil transferase (GGT) foi fortemente associada com a obesidade canina (TRIBUDDHARATANA et al., 2011), entretanto este achado não foi confirmado em outros estudos (FORSTER et al., 2012; RICCI et al., 2010). Há relatos de que a albumina em cães obesos corresponde aos maiores valores sérico de referência da espécie e que este antioxidante diminui após o emagrecimento (FORSTER et al., 2012; GERMAN, 2006; YAMKA et al., 2006; YAMKA et al., 2007).

O índice de estresse oxidativo (IEO) é considerado o marcador mais sensível de estresse oxidativo (AYCICEK et al., 2005), entretanto apenas Pirgon et al. (2013) quantificaram IEO e observaram que este índice aumenta em pessoas obesas devido a um aumento de concentração oxidante total (TOC) e diminuição da capacidade antioxidante total (TAC). Não há registros de estudos que tenham quantificado o IEO e TOC em cães obesos. Um único estudo evidenciou que na obesidade induzida em cães não ocorre diminuição de TAC (VAN DE VELDE et al., 2012).

Confirmar a hipótese de que a obesidade também causa estresse oxidativo sistêmico em cães é fundamental para orientar novas estratégias de prevenção das doenças sistêmicas associadas a este distúrbio nutricional.

2 Material e métodos

2.1 Delineamento experimental

Foi realizado um estudo observacional transversal controlado para comparar os marcadores de estresse oxidativo de cães considerados saudáveis e obesos.

De acordo com os princípios éticos em uso de animais do Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Estadual Paulista (Protocolo FOA- N° 2014/01343).

2.2 Seleção dos animais

Quarenta e quatro cães castrados, alimentados diversas raças comerciais, adultos de diferentes idades (1,5 a 13 anos), raças e sexo (31 ♀, 13 ♂) foram selecionados conforme o escore de condição corporal (ECC) descrita por (LAFLAMME, 1997). Todos os cães foram submetidos a exame clínico, incluindo hemograma completo, quantificação plasmática dos marcadores plasmáticos de estresse oxidativo (TAC, TOC, TBARS, AU, albumina e GGT) e concentração plasmática de uréia, proteína total, creatinina, colesterol, triglicerídeos, fosfatase alcalina, ALT e AST.

Os critérios de inclusão adotados para o grupo controle (n=19) foram apresentar ECC 4 ou 5 e ausência de qualquer alteração no exame físico e laboratorial. O grupo obeso (n=25) foi constituído por cães com ECC 8 ou 9 (LAFLAMME, 1997). Os critérios de exclusão adotados para ambos os grupos foi o uso recente (últimas 72 horas) de qualquer droga anti-inflamatória ou antioxidante. Foram excluídos cães que apresentavam pelo menos duas alterações clínica compatíveis com hipotireoidismo (alopecia, letargia, anemia não responsiva) e hipoadernocorticismismo (Depressão, fraqueza muscular, pulso fraco, hipoglicemia, linfocitose). Cães soro positivos para leishmaniose visceral pelo método ELISA (LIMA et al., 2003) também foram excluídos.

2.3 Obtenções de amostras e análises laboratoriais

Após um jejum alimentar de oito horas, 4,5 mL de sangue total colhidos por flebocentese da jugular, sendo 4 mL acondicionados em tubos plásticos com 40 UI de heparina sódica (Vacutainer plus plastic Heparin, Becton-Dickson, New Jersey, USA) e 0,5 mL acondicionado em tubos plásticos

contendo 10 mg de EDTA-sódico para a realização do hemograma. O plasma heparinizado foi obtido pós-centrifugação do sangue total (2750 g/ 10 minutos) e armazenado sob proteção da luz a -20°C até o momento das análises laboratorial (máximo 15 dias).

As taxas totais de leucócitos, eritrócitos, hemoglobina, volume globular, índices hematimétricos (VCM, CHCM e RDW) foram realizadas com auxílio de contador eletrônico de células sanguíneas (BC-2800 Vet, Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co. Nanshan, China). A contagem diferencial de leucócitos foi realizada em esfregaços sanguíneos corados com corante hematológico panótico rápido comercial (Instant-Prov, Newprov, Pinhais- PR.), segundo as recomendações e critérios de Jain (1986).

Todas as análises bioquímicas plasmáticas foram realizadas em analisador bioquímico automatizado (BS 200, Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Nanshan, China), previamente ajustado com calibrador comercial e controles níveis I e II (Biosystems, Barcelona, Spain). Utilizando conjunto de reativos comerciais (Biosystems, Barcelona, Spain), foi mensurada a concentração plasmática de ácido úrico pelo método enzimático (uricase/peroxidase); albumina pelo método do verde de bromocresol; gama-glutamil transferase (GGT) pelo método enzimático UV (urease/glutamato desidrogenase); fosfatase alcalina pelo método dietanolamina; colesterol pelo método enzimático oxidase/peroxidase; creatinina pelo método cinético (picrato alcalino); proteína total pelo método do biureto; triglicerídeos pelo método do glicerol fosfato oxidase/peroxidase e uréia pelo método enzimático UV (urease/glutamato desidrogenase). Todas as reações bioquímicas foram processadas a 37°C conforme orientações dos fabricantes.

A TAC plasmática foi determinada pelo método descrito por Erel (2004) e os resultados expressos em μmol de equivalente de Trolox/L. A TOC no plasma foi quantificada método descrito Erel (2005) e os resultados expressos em μmol de peróxido de hidrogênio equivalente/L. O índice de estresse oxidativo foi calculado da seguinte forma: $\text{IEO (\%)} = 100 \times [\text{TOC/TAC}]$, conforme preconizado por Aycicek et al. (2005).

A peroxidação lipídica plasmática foi determinada pelo método de TBARS, conforme Hunter (1985), com auxílio de uma leitora ELISA automática (Robonik, Elisa Plate Analyser, Índia) e absorvância 540 nm.

2.4 Análise estatística

As variáveis foram testadas quanto à normalidade (teste de Shapiro-Wilk) e homocedasticidade (teste Bartlett). Para a significância das diferenças entre os grupos foram empregados os testes de Mann-Whitney e teste t não pareado para distribuições não paramétricas e paramétricas, respectivamente. Foram consideradas significantes as diferenças com p-value menor que 0,05. Toda a análise estatística foi realizada com o programa GraphPad Prism software (GraphPad software, version 5.01).

3 Resultados

Os parâmetros laboratoriais do grupo controle corresponderam aos valores de normalidade para o hemograma (JAIN, 1986) e perfil bioquímico (KANEKO et al., 1997) considerado para espécie canina. As alterações laboratoriais do perfil plasmáticos mais frequentes observadas nos cães obesos foram hipertrigliceridemia 40% e hipercolesterolemia 20%.

Em cães obesos ocorreu aumento significativo do IEO (Figura 1A) e do TOC plasmático (Figura 1B).

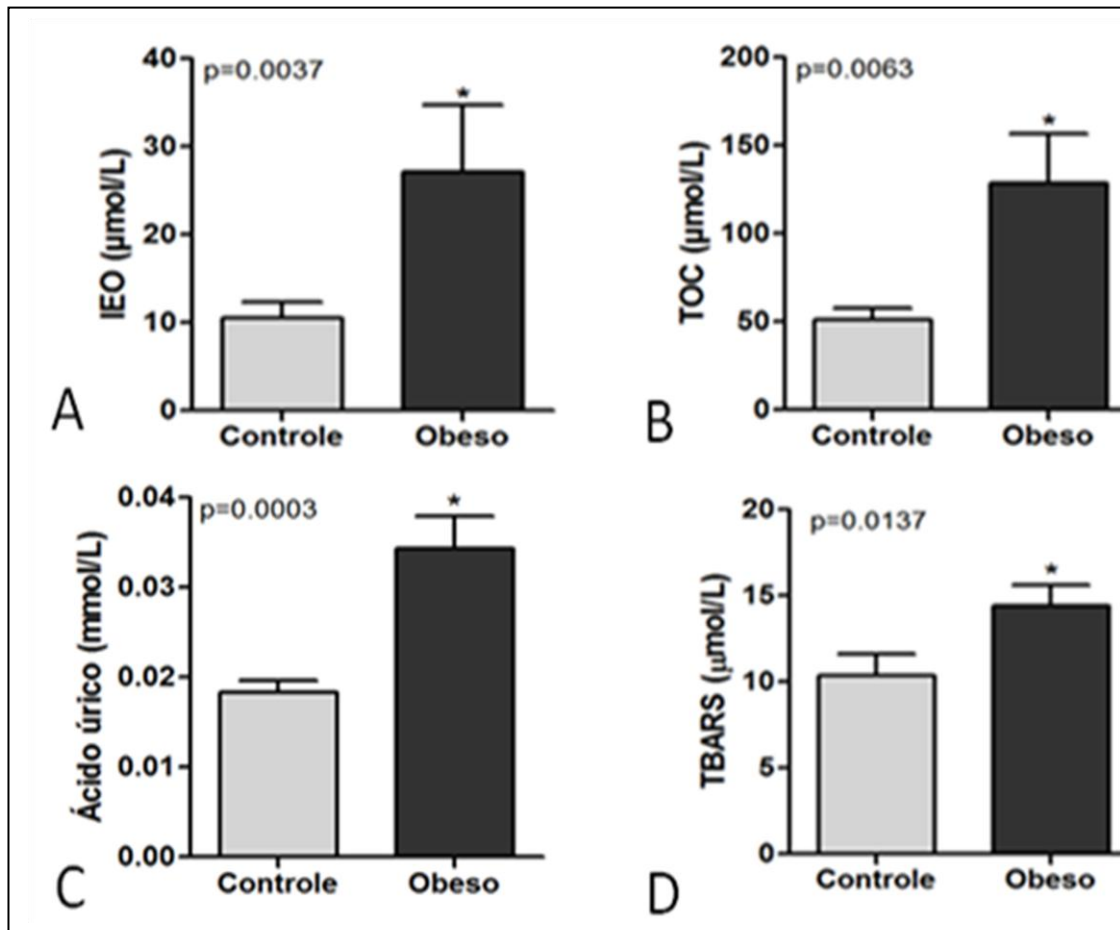


FIGURA 1 - Comparação dos marcadores de estresse oxidativo plasmáticos de cães controle e obesos. Índice de estresse oxidativo (IEO) (A), Capacidade oxidante total (TOC) (B), Ácido Úrico (C) e peroxidação lipídica mensurada pelas substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico-TBARS (D). * indica diferença estatística entre os grupos ($p < 0,05$).

Os antioxidantes endógenos (albumina e GGT) de cães obesos não diferiram (Tabela 1). O AU foi o único antioxidante endógeno que aumentou significativamente nos cães obesos (Figura 1C), porém tal alteração não promoveu aumento significativo da TAC (Tabela 1). Já a elevação de TOC coincidiu com o aumento significativo da TBARS em cães obesos (Figura 1D).

Tabela 1- Média e desvios padrão dos valores plasmáticos da capacidade antioxidante total (TAC), Albumina e Gamaglutamil transferase (GGT) de cães saudáveis (controle) e obesos.

Parâmetros Antioxidantes	Controle	Obeso	P valor
TAC ($\mu\text{mol/L}$)	486.87 \pm 170.63	481,87 \pm 185.40	0.9373
Albumina (g/L)	31.61 \pm 3.16	30.67 \pm 4.78	0.4634
GGT (U/L)	4.76 \pm 1.31	4.09 \pm 2.05	0.2317

TAC – capacidade antioxidante total; GGT – gama glutamil transferase.

4 Discussão

Refletindo o estado de higidez dos cães do grupo controle, os valores variaram dentro da faixa de referência do perfil hematológico (JAIN, 1986) e bioquímicos plasmáticos considerados para a espécie (KANEKO et al., 1997). As alterações laboratoriais observadas nos cães obesos (colesterol, triglicerídeos) são compatíveis com o grau de obesidade e concordantes com os relatos de outros estudos (GERMAN et al., 2009, TRIBUDDHARATANA et al., 2011; YAMKA et al., 2006).

O estresse oxidativo em cães foi escassamente investigado, não havendo até o momento valores de referência confiáveis para o TAC e TOC plasmático de cão. Os valores de TAC e TOC no plasma de cães do grupo controle foram inferiores aos dos relatados por Almeida et al. (2013), não divergindo quanto ao TBARS. Considerando que a metodologia empregada em ambos os estudos foi à mesma, é provável que tal diferença reflita a grande variabilidade desses parâmetros entre indivíduos na espécie canina, conforme indicam os respectivos desvios-padrão. Outro fator que dificulta a comparação desses indicadores de estresse oxidativo com os da literatura é que sabidamente diferenças quanto à sensibilidade de equipamentos, assim como a forma e tempo de conservação das amostras e reagentes interferem nos resultados (EREL 2004; 2005). Para fins de comparação, não há registros de outros estudos que tenham quantificado o IEO em cães saudáveis, sendo esta

provavelmente a primeira vez que foi estabelecida a relação entre oxidantes e antioxidantes no plasma dessa espécie.

O IEO é considerado o marcador mais sensível quando comparado à análise individual de outros marcadores de estresse (AYCICEK et al., 2005). Estudos em humanos (CĂTOI et al., 2013; PIRGON et al., 2013; WANG et al., 2014) e ratos (BEŁTOWSKI et al., 2000; FURUKAWA et al., 2004) investigaram o estresse oxidativo causado pela obesidade, entretanto apenas Pirgon et al. (2013) quantificaram IEO e confirmaram que este índice aumenta em pessoas obesas com e sem comprometimento hepático devido a um aumento de TOC e diminuição de TAC. Até então não há registros de estudos que tenham quantificado o IEO em cães obesos. Nossa hipótese inicial de que na obesidade canina também ocorre aumento do IEO foi confirmada. Diferentemente do estresse oxidativo descrito em humanos obesos (PIRGON et al., 2013), em cães obesos o aumento do IEO foi associado à elevação de TOC, porém sem diminuição significativa de TAC. Na obesidade experimentalmente induzida em cães também não foi observada diminuição de TAC (VAN DE VELDE et al., 2012).

A atividade da GGT como marcador de estresse oxidativo na obesidade é controversa embora tenha sido associada com a obesidade canina (TRIBUDDHARATANA et al., 2011) e à gordura corporal total em humanos (CHOI, 2003). No presente estudo não foi observada alteração na atividade plasmática de GGT, assim como em outros estudos realizados em cães obesos (FORSTER et al., 2012; RICCI et al., 2010) Portanto, é razoável supor que a associação entre GGT e a obesidade canina já descrita (TRIBUDDHARATANA et al., 2011) tenha sido um efeito da colestase que ocorre devido ao depósito de gordura no tecido hepático. Diferentemente, no presente estudo a colestase parece não ter ocorrido uma vez que a atividade de FA de cães obesos não se alterou.

Há relatos de que o emagrecimento de cães obesos causa diminuição da albumina sanguínea, porém a variação ocorre dentro da faixa normalidade da espécie (FORSTER et al., 2012; GERMAN, 2006; YAMKA et al., 2006;

YAMKA et al., 2007;). Concordando que estes estudos não observaram alterações significantes na concentração plasmática de albumina nos cães obesos, ficando os valores nos limites superiores considerados para espécie.

As alterações do perfil bioquímico de cães obesos foram escassamente investigadas (FORSTER et al., 2012; GERMAN, 2006; TRIBUDDHARATANA et al., 2011) e a associação entre o AU plasmático e a obesidade nesta espécie ainda não foi determinada. O AU é um poderoso sequestrador de radicais livres e fornece 60% da capacidade antioxidante do plasma humano (AMES et al., 1981). A alta concentração de AU no soro foi associada à obesidade humana (ABDUL-MAJEED, 2009) e em roedores (TSUSHIMA et al., 2013). Assim como descrito na obesidade humana e em roedores, o aumento de AU plasmático também ocorre na obesidade canina. Este provável aumento compensatório de AU não foi suficiente para equilibrar à relação entre antioxidantes e oxidantes plasmáticos.

Os principais alvos das ERO são as gorduras poli-insaturadas das membranas celulares, o que resulta na peroxidação lipídica e consequente danos na estrutura e função das células (ESTERBAUER, 1993). O TBARS é um indicador indireto dessa oxidação empregado para quantificar o aumento do estresse oxidativo na obesidade humana (KONUKOGLU et al. 2006; OZATA et al., 2002); e roedores (BEŁTOWSKI et al., 2000; FURUKAWA et al., 2004). O aumento de TBARS plasmático não foi observado em cães submetidos a uma dieta de engorda por um curto período de tempo (VAN DE VELDE et al., 2012). A semelhança ao que é descrito na obesidade humana, o aumento de TBARS plasmático em cães obesos coincidiu com a elevação do TOC plasmático.

Foi possível confirmar a ocorrência de estresse oxidativo sistêmico em cães obesos e que o maior IEO deveu-se ao aumento de TOC plasmático. A elevação do antioxidante AU plasmático não foi suficiente para aumentar o TAC e prevenir a peroxidação lipídica plasmática. É razoável supor que este estresse oxidativo sistêmico pode em longo prazo contribuir para os problemas renais (CHAGNAC et al., 2000), hepático e cardio-vascular (GERMAN, 2006) já relatados em cães obesos.

Esta é provavelmente a primeira evidência de aumento do IEO em cães obesos, portanto torna-se necessário ampliar esta investigação para melhor entender os mecanismos desse estresse oxidativo sistêmico e suas implicações clínicas. Este estudo é um ponto de partida para futuras investigações, uma vez que confirma o quanto é fundamental melhor compreender este tema a fim de orientar novas estratégias terapêuticas e nutricionais para controle do estresse oxidativo da obesidade e consequentemente prevenir complicações clínicas que podem estar associadas a este distúrbio nutricional.

5 Conclusão

A obesidade causa estresse oxidativo sistêmico em cão.

6 Referências

ABDUL-MAJEED, A. A. Relationship Between Uric Acid and Obesity. **Al-Anbar Medical Journal**, v.7, p.19-23. 2009.

ALMEIDA, B.F.; NARCISO, L.G.; MELO, L.M.; PREVE, P.P.; BOSCO, A.M.; LIMA, V.M.; CIARLINI, P.C. Leishmaniasis causes oxidative stress and alteration of oxidative metabolism and viability of neutrophils in dogs. **The Veterinary Journal**, v.198, p.599-605, 2013.

AMES, B.N.; CATHCART, R.; SCHWIERS, E.; HOCHSTEIN, P. Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant- and radical-caused aging and cancer: a hypothesis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America U S A** , v.78, p.6858-6862, 1981.

AYCICEK, A.; EREL, O.; KOCYIGIT, A. Decreased total antioxidant capacity and increased oxidative stress in passive smoker infants and their mothers. **Pediatrics International**, v.47, p.635-639, 2005.

BELTOWSKI, J.; WÓJCICKA, G.; GÓRNY, D.; MARCINIAK, A. The effect of dietary-induced obesity on lipid peroxidation, antioxidant enzymes and total plasma antioxidant capacity. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v.51, p.883-896, 2000.

BLAND, I.M.; GUTHRIE-JONES, A.; TAYLOR, R.D.; HILL, J. Dog obesity: owner attitudes and behaviour. **Preventive Veterinary Medicine**, v.92, p.333-340, 2009.

CĂTOI, A.F.; PÂRVU, A.; GALEA, R.F.; POP, I.D.; MUREȘAN, A.; CĂTOI, C. Nitric oxide, oxidant status and antioxidant response in morbidly obese patients: the impact of 1-year surgical weight loss. **Obesity Surgery journal**, v.23, p.1858-1863, 2013.

CHAGNAC, A.; WEINSTEIN, T.; KORZETS, A.; RAMADAN, E.; HIRSCH, J.; GAFTER, U. Glomerular hemodynamics in severe obesity. **American Journal of Physiology-Renal Physiology**, v. 278, p.F817-F822, 2000.

CHOI, J.W. Association between elevated serum hepatic enzyme activity and total body fat in obese humans. **Annals of Clinical & Laboratory Science**, v.33, p.257-264, 2003.

CHRYSOHOOU, C.; PANAGIOTAKOS, D.B.; PITSAVOS, C.; SKOUMAS, I.; PAPADEMETRIOU, L.; ECONOMOU, M.; STEFANADIS, C. The implication of obesity on total antioxidant capacity in apparently healthy men and women: the ATTICA study. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**, v.17, p.590-597, 2007.

EREL, O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. **Clinical Biochemistry**, v. 38, n. 12, p. 1103-1111, 2005.

EREL, O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. **Clinical Biochemistry**, v.37, n.4, p.277-285, 2004.

ESTERBAUER, H.; WÄG, G.; PUHL, H. Lipid peroxidation and its role in atherosclerosis. **British Medical Bulletin**, v.49, n.3, p.566-576, 1993.

FORSTER, G.M.; OLLILA, C.A.; BURTON, J.H. HILL, D.; BAUER, J.E.; HESS, A.M. Nutritional weight loss therapy with cooked bean powders regulate serum lipids and biochemical analytes in overweight and obese dogs. **Obesity and Weight Loss Therapy**, v.2, p.2, 2012.

FURUKAWA, S.; FUJITA, T.; SHIMABUKURO, M.; IWAKI, M.; YAMADA, Y.; NAKAJIMA, Y.; NAKAYAMA, O.; MAKISHIMA, M.; MATSUDA, M.; SHIMOMURA, I. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. **Journal of Clinical Investigation**, v.114, p.1752-1761, 2004.

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

GERMAN, A.J.; HERVERA, M.; HUNTER, L.; HOLDEN, S. L.; MORRIS, P. J.; BIOURGE, V.; TRAYHURN, P. Improvement in insulin resistance and reduction in plasma inflammatory adipokines after weight loss in obese dogs. **Domestic Animal Endocrinology**, v.37, n.4, p.214-226, 2009.

HUNTER, M. I. S.; NLEMADIM, B. C.; DAVIDSON, D. L. W. Lipid peroxidation products and antioxidantproteins in plasma and cerebrospinal fluid from multiple sclerosis patients. **Neurochemical Research**, v.10, p.1645-1652, 1985.

JAIN, N.C. Hematologic techniques. In: JAIN, N.C. **Schalm's Veterinary Hematology**. 4 ed. Philadelphia: Lea & Febiger. Cap.2, p.20-86, 1986.

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS M.L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. USA, California: Academic Press. 5 ed.1997.

KOPELMAN, P.G. Obesity as a medical problem. **Nature**, v. 404, p.635-643, 2000.

KONUKOGLU, D.; SERIN, O.; TURHAN, M.S. Plasma leptin and its relationship with lipid peroxidation and nitric oxide in obese female patients with or without hypertension. **Archives of Medical Research**, v.37, p.602-606, 2006.

LAFLAMME, D. Development and validation of a body condition score system for dogs. **Canine practice**, v.22, p.10-15, 1997.

LIMA, V. M. F.; GONÇALVES, M. E.; IKEDA, F. A.; LUVIZOTTO, M.C.R.; FEITOSA, M. M. Anti-leishmania antibodies in cerebrospinal fluid from dogs with visceral leishmaniasis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.36, p.485-489, 2003.

MCGREEVY, P.D.; THOMSON, P.C.; PRIDE, C.; FAWCETT, A.; GRASSI, T.; JONES, B. Prevalence of obesity in dogs examined by Australian veterinary practices and the risk factors involved. **Veterinary Record**, v.156, p.695-702, 2005.

MOSCHEN, A. R.; MOLNAR, C.; ENRICH, B.; GEIGER, S.; EBENBICHLER, C. F.; TILG, H. Adipose and liver expression of interleukin (IL)-1 family members in morbid obesity and effects of weight loss. **Molecular Medicine**, v.17, p.840-845, 2011.

NATHAN, C. Neutrophils and immunity: challenges and opportunities. **Nature Reviews Immunology**, v.6, p.173-182, 2006.

OZATA, M.; MERGEN, M.; OKTENLI, C. AYDIN, A.; SANISOGLU, S.Y.; BOLU, E.; YILMAZ, M.I.; SAYAL, A.; ISIMER, A.; OZDEMIR, I.C. Increased oxidative stress and hypozincemia in male obesity. **Clinical Biochemistry**, v.35, p.627-631, 2002.

PEAKE, J.; SUZUKI, K. Neutrophil activation, antioxidant supplements and exercise-induced oxidative stress. **Exercise Immunology Review**, v.10, p.129-141, 2004.

PIRGON, Ö.; BILGIN, H.; ÇEKMEZ, F.; KURKU, H.; DÜNDAR, B.N. Association between insulin resistance and oxidative stress parameters in obese adolescents with non-alcoholic fatty liver disease. **Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology**, v.5, p.33-39, 2013.

RICCI, R.; GOTTARDO, F.; FERLITO, J. C.; STEFANI, A.; RAVAROTTO, L.; ANDRIGHETTO, I. Body condition score (BCS) and metabolic status of shelter dogs. **Italian Journal of Animal Science**, v.6, p.859-861, 2010.

SKALICKY, J.; MUZAKOVA, V.; KANDAR, R.; MELOUN, M.; ROUSAR, T.; PALICKA, V. Evaluation of oxidative stress and inflammation in obese adults with metabolic syndrome. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v.46, p.499-505, 2008.

TRIBUDDHARATANA, T.; KONGPIROMCHEAN, Y.; SRIBHEN, K.; SRIBHEN, C. Biochemical Alterations and Their Relationships with the Metabolic Syndrome Components in Canine Obesity. **Natural science**, v.45, p.622-628, 2011.

TSUSHIMA, Y.; NISHIZAWA, H.; TOCHINO, Y.; NAKATSUJI, H.; SEKIMOTO, R.; NAGAO, H.; SHIRAKURA, T.; KATO, K.; IMAIZUMI, K. ; TAKAHASHI, H.; TAMURA, M.; MAEDA, M.; FUNAHASHI, T.; SHIMOMURA, I. Uric acid secretion from adipose tissue and its increase in obesity. **The Journal of Biological Chemistry**, v.288, p.27138-27149, 2013.

VAN DE VELDE, H.; JANSSENS, G.P.; STUYVEN, E.; COX, E.; BUYSE, J.; HESTA, M. Short-term increase of body weight triggers immunological variables in dogs. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.145, p.431-437, 2012.

WANG, Y.; YANG, M.; LEE, S. G.; DAVIS, C. G.; KOO, S. I.; FERNANDEZ, M. L.; VOLEK, J. S.; CHUN, O. K. Diets high in total antioxidant capacity improve risk biomarkers of cardiovascular disease: a 9-month observational study among overweight/obese postmenopausal women. **European Journal of Nutrition**, v.53, p.1363-1369, 2014.

YAMKA, R.M.; FRANTZ, N.Z.; FRIESEN, K.G. Effects of 3 canine weight loss foods on body composition and obesity markers. **International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine**, v.5, p.125, 2007.

YAMKA, R.M.; FRIESEN, K.G.; FRANTZ, N.Z. Identification of canine markers related to obesity and the effects of weight loss on the markers of interest. **International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine**, v.4, p.282, 2006.

ZAMZAMI, N.; MARCHETTI, P.; CASTEDO, M.; HIRSCH, T.; SUSIN, S.A.; MASSE, B.; KROEMER, G. Inhibitors of permeability transition interfere with the disruption of the mitochondrial transmembrane potential during apoptosis. **Febs letter**, v.384, p.53-57, 1996.