

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**AMIDO RESISTENTE, DIGESTIBILIDADE E RESPOSTAS  
PÓS-PRANDIAIS DE GLICOSE E INSULINA EM CÃES  
ADULTOS E IDOSOS**

**Érico de Mello Ribeiro**

Médico Veterinário

2016

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**AMIDO RESISTENTE, DIGESTIBILIDADE E RESPOSTAS  
PÓS-PRANDIAIS DE GLICOSE E INSULINA EM CÃES  
ADULTOS E IDOSOS**

**Érico de Mello Ribeiro**

**Orientador: Prof. Dr. Aulus Cavalieri Carciofi**

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

**2016**

R484e Ribeiro, Érico de Mello  
amido resistente, digestibilidade e respostas pós-prandiais de  
glicose e insulina em cães adultos e idosos/ Érico de Mello Ribeiro. –  
– Jaboticabal, 2016  
x, 66 p. : il. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,  
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016  
Orientador: Aulus Cavalieri Carciofi  
Banca examinadora: Áureo Evangelista Santana, Ricardo Souza  
Vasconcellos  
Bibliografia

1. Carboidrato. 2. Metabolismo. 3. Prebiótico. 4. Senilidade. I.  
Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:636.085.2:636.7



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

TÍTULO: AMIDO RESISTENTE, DIGESTIBILIDADE E RESPOSTAS PÓS-PRANDIAIS  
DE GLICOSE E INSULINA EM CÃES ADULTOS E IDOSOS

**AUTOR: ÉRICO DE MELLO RIBEIRO**

**ORIENTADOR: AULUS CAVALIERI CARCIOFI**

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em MEDICINA  
VETERINÁRIA, área: CLÍNICA MÉDICA VETERINÁRIA, pela Comissão Examinadora:

  
Prof. Dr. AULUS CAVALIERI CARCIOFI  
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Prof. Dr. RICARDO SOUZA VASCONCELLOS  
Universidade Estadual de Maringá / UEM - Maringá/PR  
Participação por Videoconferência

Prof. Dr. AUREO EVANGELISTA SANTANA  
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 26 de fevereiro de 2016.

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

**ÉRICO DE MELLO RIBEIRO**, nascido em 7 de maio de 1985, em Pelotas, estado do Rio Grande do Sul, filho de Edimar Gonçalves Ribeiro e Marilda Mello Ribeiro, graduou-se em Medicina Veterinária pela Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas em agosto de 2010. cursou o Programa de Residência Médico Veterinária em Clínica Médica de Pequenos Animais do Hospital de Clínicas Veterinárias da mesma instituição nos anos de 2011 e 2012. cursou o Programa de Aprimoramento em Medicina Veterinária, na área de Nutrição e Nutrição Clínica de Cães e Gatos do Hospital Veterinário Governador Laudo Natel da FCAV/Unesp, Câmpus de Jaboticabal, nos anos de 2012 e 2013. Iniciou o curso de Mestrado em Medicina Veterinária, área Clínica Médica Veterinária na mesma instituição em março de 2014, onde atuou na área de Nutrição e Nutrição Clínica de Cães e Gatos, sob a orientação do Prof. Dr. Aulus Cavalieri Carciofi.

*Ofereço*

Aos meus pais, Edimar e Marilda,  
pelo apoio e incentivo de sempre  
para minha formação.

## *Dedico*

À minha companheira Andressa, pelo amor e apoio. Por me estimular a ser uma pessoa melhor em todos os aspectos.

## **AGRADECIMENTOS**

Aos meus pais, pelo apoio e incentivo de sempre para minha formação. Mais uma etapa se conclui e o sentimento de gratidão que não cabe em palavras continua, por tudo que fizeram e fazem para eu chegar até aqui. Muito obrigado por tudo.

À minha companheira Andressa, pelas grandes experiências compartilhadas, pelo amor, apoio e ajuda em todos os momentos. Pelo exemplo de dedicação e conduta. Por me tornar uma pessoa melhor. Se a popular frase diz que por trás de um grande homem existe uma grande mulher, posso me sentir muito feliz, pois já tenho, ao meu lado, uma grande mulher. Muito obrigado por tudo.

Ao Professor Aulus Cavalieri Carciofi, pela oportunidade e confiança. Além de todo o aprendizado durante o curso, sua postura e dedicação são grandes exemplos de modelo profissional a ser seguido. Muito obrigado.

À minha família, em especial aos meus padrinhos Antônio Carlos e Maria das Graças pelas palavras de apoio e incentivo e pelo carinho de sempre. Muito obrigado pelos poucos mas ótimos momentos de convívio neste período e pelo apoio dado com a cirurgia de meu pai. Cada um, à sua maneira, serve de inspiração e motivação.

Aos bons e verdadeiros amigos, pelo apoio e pelos momentos de alegria. Vocês sabem quem são.

À todos os colegas e amigos do Laboratório e da Residência de Nutrição de Cães e Gatos, pela amizade e companheirismo. Pelas ajudas durante as diversas etapas do curso e por tornarem os momentos de trabalho mais agradáveis. Ana Paula, Bruna, Camila, Fabiano, Fernanda Kroll, Fernanda Mendonça, Francine, Katiani, Ludmilla, Mariana, Mayara Baller, Mayara Peixoto, Michele, Peterson, Raquel, Stephanie, Thaila e Vivian. Aprendi um pouco com cada um, seja através de conversas ou de exemplos.

À técnica Cláudia Nogueira, do Laboratório de Apoio à Pesquisa do DCCV, pela amizade, paciência e disponibilidade em ensinar e ajudar nas análises, facilitando muito nossa rotina com seu bom humor.

Aos funcionários Diego e Elaine, por toda ajuda e pela amizade. Por tornarem o laboratório um melhor lugar tanto para nós quanto para os cães e gatos.

Ao Prof. Gener Tadeu Pereira pela contribuição no delineamento experimental e análise dos dados.

À Professora Mirela Tinucci Costa e à Dra. Thaila Cristina Putarov pelas contribuições na banca de qualificação e aos Professores Áureo Evangelista Santana e Ricardo Souza Vasconcellos pelas contribuições na banca de defesa da dissertação.

Aos estagiários que pude conviver durante este período, em especial à Mariana Pescuma, pela disposição em ajudar e pelo incentivo em melhorar a cada dia.

Aos funcionários da Fábrica de Rações Helinho, Batista (*in memoriam*) e Lucas pela ajuda durante a fase de preparação e produção das dietas.

À Guabi Petcare pela manutenção financeira do Laboratório de Pesquisa em Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos “Prof. Dr. Flávio Prada”.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pela concessão da bolsa de mestrado (processo 2014/16501-1).

Aos cães, Kelly, Xuxa, Dexter, Peter e Hanna, e aos gatos, Kinder, Tchuco e Negão, que tive e tenho o prazer de conviver, pela amizade e estímulo para me tornar um melhor profissional a cada dia. Aos cães que participaram deste estudo: Peri, Luisinho, Zezinho, Leo Jr, Chico, Rímel, Napoleão Jr, Stephanie, Jeremias, Jasmim, Scooby, Scoty, Simba, Manu, Sofie e Sasha. E a todos os cães e gatos do Laboratório de Pesquisa em Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos pelas doses diárias de alegria e carinho.

## SUMÁRIO

	Página
Certificado de aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais.....	iii
Resumo.....	iv
Abstract.....	v
Lista de tabelas .....	vi
Lista de figuras .....	viii
Lista de abreviaturas .....	ix
CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais.....	1
1. Introdução .....	1
2. Revisão de Literatura.....	4
2.1 Envelhecimento.....	4
2.2 Alterações metabólicas no cão idoso: resistência insulínica.....	4
2.3 Processamento de alimentos para cães.....	7
2.3.1 Moagem e extrusão.....	7
2.3.2 Amido resistente .....	9
3. Hipótese .....	12
4. Objetivos .....	12
5. Referências Bibliográficas .....	13
CAPÍTULO 2 – Envelhecimento e amido resistente sobre a resposta pós-prandial de glicose e insulina em cães.....	21
Resumo .....	22
Abstract .....	23

Introdução .....	24
Material e Métodos .....	25
Animais e delineamento experimental.....	25
Dietas experimentais.....	27
Determinação da digestibilidade dos nutrientes e análises químicas dos alimentos e fezes.....	30
Avaliação do pH e produtos de fermentação das fezes.....	32
Avaliação da resposta pós-prandial de glicose e insulina .....	34
Análise estatística .....	36
Resultados .....	37
Discussão.....	55
Referências.....	63



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

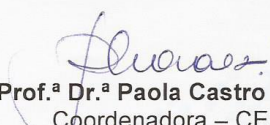


## CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

### CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 015291/14 do trabalho de pesquisa intitulado **"Envelhecimento e amido resistente sobre a resposta pós-prandial de glicose e insulina de cães"**, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Aulus Cavalieri Carciofi está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 03 de setembro de 2014.

Jaboticabal, 03 de setembro de 2014.

  
**Prof.ª Dr.ª Paola Castro Moraes**  
Coordenadora – CEUA

## **Envelhecimento e amido resistente sobre a resposta pós-prandial de glicose e insulina em cães.**

**RESUMO** - Este estudo avaliou os efeitos do consumo de amido resistente (AR) em cães adultos e idosos sobre a digestibilidade dos nutrientes, produtos de fermentação e respostas pós-prandiais de glicose e insulina. Uma formulação foi processada de dois modos, originando rações com baixo (0,21%) e elevado (1,46%) teores de AR. Os dados de consumo, digestibilidade e produtos de fermentação foram avaliados pela função GLM do SAS, considerando delineamento em blocos casualizados no tempo (cross over), com tratamentos no esquema fatorial em dois níveis de idade e dois níveis de ração. Utilizou-se análise de variância de medidas repetidas no tempo para avaliar os efeitos da dieta e do tempo sobre as respostas pós-prandiais de glicose e insulina. A digestibilidade aparente da proteína bruta foi maior na dieta baixo AR. Os cães adultos produziram fezes com maiores volume, umidade e pH, bem como maiores concentrações de ácido acético, ácidos graxos de cadeia curta e voláteis. A ração alto AR induziu fezes com maiores concentrações de ácidos propiônico e butírico; nos cães idosos também elevou a concentração de lactato, corroborando o menor pH das fezes deste grupo. A amônia fecal foi maior nos idosos; a ração alto AR reduziu estas concentrações neste grupo. As glicemias mínimas e médias foram maiores nos adultos, assim como as áreas abaixo da curva (AAC) de glicose nos períodos 0-120', 240-720' e 0-720'. Apenas nos idosos houve redução das AAC de glicose ao consumirem a ração alto AR. A AAC do incremento de glicose foi maior nos idosos no período intermediário. O maior consumo de AR apresentou efeito benéfico na fermentação intestinal, com redução do pH das fezes e maior concentração de butirato em ambas as idades. Nos cães idosos, ocorreu benefício adicional com redução da amônia nas fezes. Cães idosos apresentaram maior secreção pós-prandial de insulina para manter glicemia. A dieta com alto AR foi efetiva em reduzir a glicemia nos idosos, mas não nos adultos.

**Palavras-chave:** carboidrato, metabolismo, prebiótico, senilidade.

## **Aging and resistant starch consumption on glucose and insulin postprandial response of dogs**

**ABSTRACT** - This study evaluated the effects of resistant starch (RS) consumption in adult and elderly dogs on nutrient digestibility, fermentation products and postprandial glucose and insulin responses. The same formulation was processed in two different ways, producing diets with low (0.21%) and high (1.46%) RS levels. Consumption, digestibility and fermentation products data were evaluated by SAS GLM function considering a randomized block design in time (cross over), with treatments in a factorial design in two age levels and two feed levels. We used analysis of variance of repeated measurements over time to assess the effects of diet and time on postprandial glucose and insulin responses. The protein digestibility was greater in the diet with low RS. Adult dogs produced feces with higher volume, water content and pH, as well as higher concentrations of acetic acid, short chain and volatile fatty acids. Consumption of high RS diet produced faeces with higher concentrations of propionic and butyric acids, and in elderly group this diet also increased the concentration of lactate, corroborating the lowest pH of stools in this age group. Fecal ammonia was higher in the elderly dogs, and the consumption of high RS diet by this age group reduced these concentrations. The minimum and average blood glucose levels were higher in adult dogs, as well as glucose areas under the curve (AUC) during periods 0-120, 0-240', 0-720' and 420-720'. Only in the elderly the consumption of high RS diet reduced glucose AUC. Incremental glucose AUC was greater in the elderly during the intermediate period. The greater consumption of RS was beneficial to intestinal fermentation, reducing fecal pH and higher butyrate concentration in both age groups. In the elderly group, additional benefit was achieved by the reduction of fecal ammonia. Elderly dogs presented greater post-prandial insulin secretion to maintain normoglycemia. The high RS diet reduced glycemia in the elderly, but not in the adult group.

**Keywords:** carbohydrate, metabolism, prebiotic, senility

**LISTA DE ABREVIATURAS**

AAC	Área abaixo da curva
AAFCO	Association of American Feed Control Officials
AAI	Área abaixo do incremento
AGCC	Ácidos graxos de cadeia curta
AGCR	Ácidos graxos de cadeia ramificada
AGV	Ácidos graxos voláteis
AOAC	Association of the Official Analytical Chemists
AR	Amido resistente
DGM	Diâmetro geométrico médio
EB	Energia bruta
EEHA	Extrato etéreo em hidrólise ácida
EPM	Erro padrão da média
FEDIAF	Federação Europeia das Indústrias de Pet Food (The European Pet Food Industry Federation)
g	Gramas
GLM	General linear models
h	Hora
kcal	Kilocalorias
kW	Kilowatt
L	Litro
mg	Miligramas
mm	Milímetro
MM	Matéria mineral

MS	Matéria seca
NRC	Nacional Research Council
PB	Proteína bruta
SAS	Statistical Analysis System
ton	Tonelada
UI	Unidade internacional

**LISTA DE TABELAS**

	Página
<b>Tabela 1.</b> Fórmula das rações para manutenção de cães utilizadas no experimento .....	28
<b>Tabela 2.</b> Composição química analisada e parâmetros de processamento das dietas experimentais para cães processadas para se obter diferentes graus de cozimento e teores de amido resistente .....	30
<b>Tabela 3.</b> Ingestão e coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes e da energia em cães adultos e idosos alimentados com uma mesma formulação extrusada para se obter diferentes graus de cozimento e teores de amido resistente .....	38
<b>Tabela 4.</b> Produção e características das fezes de cães adultos e idosos alimentados com uma mesma formulação extrusada para se obter diferentes graus de cozimento e teores de amido resistente .....	41
<b>Tabela 5.</b> Concentração de produtos de fermentação (mMol/kg de fezes na MS) nas fezes de cães adultos e idosos alimentados com uma mesma formulação extrusada para se obter diferentes graus de cozimento e teores de amido resistente .....	42
<b>Tabela 6.</b> Glicemias mínimas, médias e máximas e tempo para o pico máximo de glicose de cães adultos e idosos alimentados com uma mesma formulação extrusada para se obter diferentes graus de cozimento e teores de amido resistente .....	45
<b>Tabela 7.</b> Insulinemias mínimas, médias e máximas e tempo para o pico máximo de insulina de cães adultos e idosos alimentados com uma mesma formulação extrusada para se obter diferentes graus de cozimento e teores de amido resistente .....	46

<b>Tabela 8.</b>	Áreas abaixo da curva (AAC) de glicose (mg/dL/h) de cães adultos e idosos alimentados com uma mesma formulação extrusada para se obter diferentes graus de cozimento e teores de amido resistente .....	47
<b>Tabela 9.</b>	Áreas abaixo da curva do incremento (AAI) de glicose (mg/dL/h) de cães adultos e idosos alimentados com uma mesma formulação extrusada para se obter diferentes graus de cozimento e teores de amido resistente .....	48
<b>Tabela 10.</b>	Áreas abaixo da curva (AAC) de insulina (pmol/L/h) de cães adultos e idosos alimentados com uma mesma formulação extrusada para se obter diferentes graus de cozimento e teores de amido resistente .....	49
<b>Tabela 11.</b>	Áreas abaixo da curva do incremento (AAI) de insulina (pmol/L/h) de cães adultos e idosos alimentados com uma mesma formulação extrusada para se obter diferentes graus de cozimento e teores de amido resistente .....	50

**LISTA DE FIGURAS**

	Página
Figura 1. Respostas pós-prandiais de glicose de acordo com o tempo de coleta de cães alimentados com dietas experimentais processadas para se obter diferentes graus de cozimento e teores de amido resistente .....	51
Figura 2. Incrementos de glicose de acordo com o tempo de coleta de cães alimentados com dietas experimentais processadas para se obter diferentes graus de cozimento e teores de amido resistente .....	52
Figura 3. Respostas pós-prandiais de insulina de acordo com o tempo de coleta de cães alimentados com dietas experimentais processadas para se obter diferentes graus de cozimento e teores de amido resistente .....	53
Figura 4. Incrementos de insulina de acordo com o tempo de coleta de cães alimentados com dietas experimentais processadas para se obter diferentes graus de cozimento e teores de amido resistente .....	54

## **CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais**

### **1. Introdução**

Nos últimos anos, tem-se observado um aumento expressivo na expectativa de vida de animais de companhia, fenômeno decorrente do conjunto de melhorias obtidas nas áreas de nutrição e controle de doenças, da maior conscientização dos proprietários com relação aos cuidados necessários para com a saúde do animal e dos avanços obtidos na área médica veterinária (FAHEY et al., 2008). Todavia, o aumento da idade é acompanhado de alterações fisiológicas diversas que caracterizam o processo de envelhecimento. Estas alterações provocam mudanças importantes nos sistemas fisiológicos, podendo ocasionar o aparecimento de doenças associadas ao avanço da idade (BURKHOLDER, 1999; MORAES, 2008; FORTNEY, 2010).

A resistência insulínica tem sido identificada como alteração fisiológica recorrente em cães em idade avançada. Cães idosos apresentam maior concentração basal de insulina para manutenção de concentrações semelhantes de glicose sanguínea quando comparados com cães jovens (LARSON et al., 2003; BHASHYAM et al., 2007; MORI et al., 2012). Adicionalmente, a resposta insulínica ao teste intravenoso de tolerância à glicose e o tempo de retorno às concentrações basais de insulina aumentam com a idade (LARSON et al., 2003). Acredita-se que resistência insulínica desenvolvida com o avanço da idade cause secreção compensatória do hormônio pelas células beta-pancreáticas, visando promover adequada captação de glicose e tolerância aos carboidratos (BERGMAN, 1989). Este fenômeno pode ter importantes implicações de saúde a longo prazo, uma vez que uma adequada sensibilidade insulínica está positivamente correlacionada com menores riscos de doenças e morte por doenças crônicas em cães, resultando em maior qualidade de vida para os animais (LARSON et al., 2003).

Diferentes fatores dietéticos são responsáveis pela resposta pós-prandial de glicose e insulina em mamíferos, incluindo-se as especificidades referentes ao processamento do alimento (HOLSTE et al., 1989). O amido é o principal nutriente responsável pela modulação da resposta pós-prandial de glicose e insulina séricas em animais, e maior disponibilidade do amido para digestão provoca antecipação e

intensificação do pico de glicose e insulina no sangue (MILLA et al., 1996; SUNVOLD et al., 1995; SUNVOLD, 1996; JENKINS et al., 1998; APPLETON et al., 2004).

O amido é o principal carboidrato utilizado pelas indústrias na formulação de ração para animais, incluindo cães (FAHEY, 2008). Perfaz cerca de 50-90% da composição total de grãos, principais ingredientes utilizados na indústria de ração para animais de companhia (CRANE et al., 2000). A moagem dos grãos na indústria de rações está intimamente relacionada com a eficiência do processo de produção dos alimentos, e a moagem fina com baixa granulometria dos ingredientes, é amplamente utilizada para melhorar o aspecto visual do produto, independentemente das características nutricionais obtidas neste processamento (ROKEY & HUBER, 1994). Estudos em seres humanos mostram que o formato e estrutura dos grãos processados apresentam impacto significativo sobre a resposta pós-prandial de insulina e glicose (O'DEA; NESTEL; ANTONOFF, 1980; JUNTUNEN et al., 2002); uma maior moagem dos grãos, resultando em partículas pequenas está relacionada a menor sensação de saciedade e níveis elevados de glicose e insulina pós-prandial (HOLT & MILLER, 1994; PEREIRA et al., 2002). Isso ocorre, possivelmente, devido à menor digestibilidade do amido por ocasião da moagem grossa, uma vez que a manutenção do amido em grãos ou sementes apenas parcialmente moídos reduz a acessibilidade das enzimas digestivas ao mesmo (SNOW; O'DEA, 1981; ENGLYST et al., 1992).

Alternativas à apresentação convencional do amido na ração industrializada podem ser úteis no auxílio ao controle da resistência insulínica que se desenvolve em cães idosos. O amido resistente (AR) refere-se à soma do amido e de seus produtos de degradação que não são digeridos e absorvidos no intestino delgado de indivíduos saudáveis, sendo fermentados por bactérias no intestino grosso (LOBO e SILVA, 2003). A fração resistente do amido apresenta comportamento similar ao da fibra alimentar fermentável e têm sido relacionada com efeitos benéficos locais e sistêmicos, decorrentes de sua disponibilidade para fermentação bacteriana anaeróbica no cólon (MUIR e O'DEA, 1992). Na condição de substrato, o AR têm sido estudado na modulação da microbiota intestinal, sendo capaz de promover o aumento de populações de bactérias amilolíticas e de produtoras de ácidos graxos

de cadeia curta (AGCC; ácidos acético, propiônico e butírico) (KOVATCHEVA-DATCHARY et al., 2009), podendo ser considerado um prebiótico efetivo. Os AGCC estão relacionados à diminuição da adipogênese e da resistência insulínica, ao controle do status inflamatório à manutenção da integridade da barreira intestinal em estudos com seres humanos e ratos (BELOBRAJDIC et al., 2012). De forma mais específica, os AGCC atuam na liberação dos hormônios incretinos GLP-1 e PPY, que contribuem para a parada ileal, retardam o esvaziamento gástrico e o trânsito intestinal (WEN et al., 1995), estimulam a saciedade (HOUPY, 1982), retardam a digestão do amido e, conseqüentemente, a absorção de glicose (HOLT et al., 1979). Como resultado favorece a estabilização das respostas pós-prandiais de glicose e insulina (ROBERFROID, 1993). Estudos demonstram que a administração de dieta com teores elevados de AR, em modelos animais e também em seres humanos induziu menores concentrações de insulina sérica ao longo do dia, com melhor controle dos picos de glicemia (ZHOU et al., 2008; REGMI et al., 2011; RABEN et al., 1994), mesmo após o consumo de apenas uma refeição com alto AR (ROBERTSON et al. 2003).

Poucos estudos avaliaram o uso de prebióticos e seus impactos sobre o metabolismo e respostas sistêmicas de cães (RESPONDEK et al., 2008). Em estudo recente de nossa equipe de pesquisa (ROBERTI-FILHO, 2013), foi observado que cães adultos alimentados com formulação contendo teor de AR de 3,5% apresentaram alteração no perfil da microbiota intestinal, com aumento linear de bifidobacterias e lactobacilos, aumento linear da produção de AGCC e melhora das respostas pós-prandiais de glicose e insulina quando comparados com animais alimentados com formulação padrão, que contém 0,5% de AR. Em conjunto com os anteriores, este resultado indica que o AR pode ser ferramenta útil no controle das concentrações de glicose e da resistência insulínica em cães.

Sendo assim, foi estabelecida a hipótese que o consumo de AR pode modular as respostas glicêmicas e insulínicas pós-prandiais de cães idosos, resultando em benefício ao metabolismo de carboidratos nestes animais e melhorando o quadro de resistência insulínica que se instala em decorrência do envelhecimento.

## **2. Revisão de Literatura**

### **2.1 Envelhecimento**

O envelhecimento é um processo biológico complexo, caracterizado por alterações graduais que ocorrem nas células e tecidos com o passar do tempo, e que levam à diminuição da capacidade funcional dos sistemas fisiológicos e metabólicos do organismo (OSELLA et al., 2007; MORAES, 2008). É um fenômeno multifatorial influenciado por mecanismos genéticos, acúmulo de metabólitos nos tecidos e modificações no metabolismo de nutrientes que levam à perda gradual da homeostase dos sistemas (HAYEK; DAVENPORT, 1998). A idade a partir da qual cães são considerados geriatrias varia substancialmente em função da raça, sendo os cães de raças menores mais longevos que aqueles de raças grandes e gigantes (LI et al., 1996; ADAMS et al., 2010; FICK et al., 2012). De modo geral, cães de raças grandes e gigantes são considerados geriatrias a partir de 5 anos de idade, enquanto cães de raças pequenas atingem esta classificação a partir dos 7 anos de idade (MARKHAM; HODGKINS, 1989; NRC, 2006).

Embora o processo de envelhecimento em si não seja sinônimo de doença, a perda gradual da funcionalidade dos sistemas do organismo frequentemente culmina no aparecimento de sintomas clínicos relacionados às doenças associadas ao avanço da idade (MORAES, 2008; FORTNEY, 2010). Estes sintomas são resultado das alterações fisiológicas decorrentes do envelhecimento e caracterizam as doenças que são mais prevalentes em animais idosos, como transtornos cognitivos, doença renal, câncer, doença articular degenerativa, doença cardíaca, desordens endócrinas, doença periodontal, disfunção cognitiva e alterações da composição corporal, com emagrecimento ou obesidade (DEBRAEKELEER; GROSS; ZICKER, 2010).

### **2.2 Alterações metabólicas no cão idoso: resistência insulínica**

O aumento na sobrevivência dos animais de companhia tem promovido maior interesse no estudo das disfunções associadas ao envelhecimento nos animais. A resistência insulínica é uma disfunção metabólica comumente abordada no contexto do desenvolvimento do diabetes mellitus em cães de diferentes idades. No entanto,

o aumento nas concentrações séricas de insulina e glicose em animais idosos não-diabéticos tem sido encontradas em estudos recentes que comparam o perfil metabólico de animais saudáveis de diferentes idades (LARSON et al., 2003; BHASHYAM et al., 2007; MORI et al., 2012), Estes estudos indicam a necessidade de se avaliar a ocorrência e efeitos desta alteração fisiológica na qualidade e expectativa de vida em animais idosos saudáveis.

Resistência insulínica é o termo que se refere à inabilidade de uma concentração conhecida de insulina de promover a captação e utilização da glicose pelas células em um indivíduo na mesma intensidade em que o faz na maior parte da população. A resistência insulínica refere-se especificamente à relação glicose-insulina, independente dos efeitos da concentração de insulina sobre os outros sistemas fisiológicos em que ela atua (WALKER et al., 1997; LEBOVITZ, 2000).

A glicose é um monossacarídeo resultante da digestão de carboidratos amiláceos que serve como substrato metabólico para a geração de energia em animais de diversas espécies, a exemplo dos cães (HERDT, 1999). Após a digestão, a glicose é absorvida pelo intestino delgado através de moléculas transportadoras em um processo passivo. Uma vez absorvida, a glicose entra na circulação sanguínea pelo sistema porta-hepático e é distribuída para os tecidos. A glicose disponível entra nas células através de transportadores específicos que variam entre as células, e a função destes transportadores é regulada por mecanismos hormonais e não hormonais (KOHLMEIER, 2003).

Os mecanismos hormonais são os principais responsáveis pelo controle da glicemia, e estão baseados na secreção coordenada dos hormônios glucagon e insulina pelas células alfa e beta pancreáticas, respectivamente. O glucagon responde às baixas concentrações de glicose circulante, promovendo a glicogenólise e gliconeogênese no fígado, o que leva à liberação de glicose no sangue; a insulina tem efeito inverso: quando há alta concentração de glicose circulante, ela aumenta a incorporação de glicose pelas células, especialmente musculares e adiposas, promovendo o acúmulo de glicose nestas células na forma de glicogênio e gordura, respectivamente (QUESADA et al., 2008).

Nas células beta pancreáticas, a insulina é produzida e armazenada em grânulos secretores. A entrada de glicose nas células beta pancreáticas através de

canais de transporte passivo gera a sinalização que leva à secreção da insulina (SORIA et al., 2004). Embora a glicose seja o principal desencadeador da secreção de insulina, outros estímulos, como macronutrientes, fatores humorais, hormônios e mecanismos neurais podem promover a liberação da insulina (WILCOX, 2005).

Uma vez circulante, a insulina liga-se ao seu receptor na membrana da célula-alvo e desencadeia uma cascata de sinalização que ativa o intermediário fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K), responsável pela translocação do transportador de glicose GLUT 4 do interior para a membrana da célula. GLUT 4 é o principal transportador de glicose de células musculares e adipócitos, permitindo que estas células respondam de forma eficiente às altas concentrações de glicose sérica, a fim de promover o seu armazenamento (KIDO; NAKAE; ACCILI, 2001). Ainda, a insulina estimula a glicólise e inibe a gliconeogênese, promove a conversão do piruvato em Acetil-Coa, levando à síntese de ácidos graxos, e também estimula a síntese de proteínas (DENTON; TAVARÉ, 1997).

Quando há uma deficiência na sinalização promovida pela insulina sobre a translocação de GLUT4, os níveis de glicose no sangue mantem-se elevados. Uma vez que a secreção de insulina é regulada pela concentração sérica de glicose, a hiperglicemia promove uma hiperinsulinemia compensatória, em que as células beta pancreáticas passam a secretar mais insulina em resposta às concentrações de glicose circulantes (LEBOVITZ, 2000). A resistência insulínica pode surgir de qualquer alteração que afete a sinalização promovida pela insulina, apresentando, portanto, etiologias distintas. Em humanos, ela está fortemente associada ao depósito de tecido adiposo e consequente obesidade (MORINO; PETERSEN; SHULMAN, 2006). Em cães, no entanto, a adiposidade não aparece relacionada à resistência insulínica, porém a restrição alimentar promove um melhor controle dos níveis de glicose e insulina séricos, possivelmente devido à menor quantidade de fontes de glicose na alimentação (LARSON et al., 2003; LAWLER et al., 2007), a detecção da resistência insulínica em cães idosos sem a ocorrência de sobrepeso/obesidade tem sido descrita em diferentes estudos (LARSON et al., 2003; BHASHYAM et al., 2007; MORI et al., 2012), e esta tem sido considerada uma alteração fisiológica decorrente do avanço da idade. A etiologia da resistência insulínica associada ao envelhecimento em cães ainda é desconhecida, assim como

detalhes de seus efeitos a longo prazo sobre a sobrevivência e qualidade de vida nos animais. Estudos em modelos animais e em humanos associam a hiperglicemia e hiperinsulinemia à ocorrência de doenças crônicas diversas, como disfunções cardiovasculares, articulares e câncer. Em cães, o quadro de resistência insulínica em animais idosos não-obesos aparece associada ao aumento nos quadros de doenças crônicas e aumento do risco de morte; o uso de abordagens que mantenham sob controle os níveis glicêmicos e insulinêmicos está associado à menor ocorrência de doenças crônicas (LARSON et al., 2003), justificando a intensificação dos estudos neste sentido.

## **2.3 Processamento de alimentos para cães**

### **2.3.1 Moagem e extrusão**

Cerca de 95% das formulações comerciais destinadas à alimentação de cães e gatos consistem em dietas secas extrusadas (ANFAL PET, 2011), que utilizam grãos variados como fonte essencial de carboidratos. Nos grãos, os carboidratos ficam armazenados na forma de grânulos de amido. O amido é um polissacarídeo que pode ser digerido e absorvido na forma de glicose pelo intestino por animais monogástricos, e por isso representa a principal fonte energética destes (WALTER, 2005).

Dentre as etapas de fabricação de alimentos comerciais extrusados com enfoque nos carboidratos, a moagem e a extrusão são de grande importância para o melhor aproveitamento destes nutrientes pelos cães e gatos.

A moagem promove a redução do tamanho das partículas no processo de produção das formulações, que tem como objetivo proporcionar mistura homogênea dos ingredientes e facilitar a extrusão (FRAIHA et al., 2005). O principal método utilizado é de moinho de martelo (CRANE; GRIFFIN; MESSENT, 2000), que consiste basicamente em um conjunto de facas rombas (martelos) perfiladas e fixas a um eixo de alta rotação (ALLES, 2003). Uma peneira, com diâmetro dos furos de acordo com a característica final desejada do produto, fica ao redor deste sistema. Os ingredientes que serão moídos entram na câmara de moagem por ação da gravidade e encontram os martelos em alta rotação, o que reduzirá o material ao estado semi-moído ou moído. Uma vez reduzidas as partículas, após o atrito gerado

entre os ingredientes e a peneira, estas passam pelos forames da peneira impulsionadas pela força centrífuga (OWENS e HEIMANN, 1994).

Esta etapa representa boa parte dos custos na indústria de rações (AMERAH et al., 2007), sendo que quanto menor a granulometria desejada, menor será a produtividade e maior o consumo de energia pelo moinho (HEALY et al., 1994; DOZIER, 2002). A eficiência do processo de moagem varia de acordo com os ingredientes utilizados, a área útil da peneira, a velocidade periférica dos martelos, da configuração dos martelos e da velocidade do alimentador (BAZOLLI, 2007). O alimentador deve fornecer entrada constante e uniforme dos ingredientes e distribuição em toda a área da peneira, tendo papel fundamental na produtividade (ALLES, 2003).

A extrusão é o processo seguinte à moagem, onde a mistura de ingredientes será submetida, durante curto período, a altas temperatura e pressão. O sistema de extrusão consiste basicamente em alimentador, pré-condicionador, extrusora e matriz (RESCHSTEINER, 2005). O alimentador direciona, de maneira contínua e controlada, a mistura seca dos ingredientes para o pré-condicionador, onde vapor e água são adicionados à mistura. Ocorre a transformação em uma massa, através da mistura por um sistema de barras cilíndricas com pás dispostas radialmente. No pré-condicionador aumenta-se a umidade e a temperatura da massa, levando a maior estabilidade da extrusora e qualidade do produto final (BAZOLLI, 2007). A extrusora consiste em um tubo com sistema de rosca-sem-fim, denominado canhão. Dentro do canhão ocorre compressão da massa, gerando energia mecânica, e atrito, gerando energia térmica, que eleva a temperatura da massa e promove o cozimento do amido. A escolha da velocidade de rotação e da configuração da rosca influencia a energia mecânica aplicada à massa (CHUANG e YEH, 2004; DING et al., 2004). Pode-se injetar vapor d'água diretamente no canhão da extrusora, aumentando a temperatura da massa, reduzindo a fricção e aumentando a produção. No final do canhão a temperatura pode chegar a 150°C e a pressão a 37 atm (RIAZ, 2003). Ao final do sistema da extrusora tem-se a matriz, que tem por funções restringir a saída do produto, gerando pressão para aplicação da energia mecânica, e dar o formato final da partícula, através do orifício da matriz e da velocidade de corte das facas (CRANE; GRIFFIN; MESSENT, 2000).

### 2.3.2 Amido resistente (AR)

Apesar da capacidade dos monogástricos em digerir o amido, esta digestão é heterogênea, e parte do amido não é hidrolisado no processo de digestão. De acordo com a resistência à hidrólise *in vitro*, o amido é dividido em três classificações, sendo que o amido resiste à ação das enzimas digestivas após 120 minutos é denominado amido resistente (AR) (ENGLYST; KINGMAN; CUMMINGS; 1992). O AR, por sua vez, é classificado em quatro tipos de acordo com sua resistência à ação enzimática (THOMPSON, 2000); especificamente, o tipo 1 se refere ao AR fisicamente inacessível às amilases, podendo ser gerado, por exemplo, por moagem grosseira e presença de cereais crus (POLESI, 2011).

Fisiologicamente, o AR é definido como a soma do amido e dos produtos da sua degradação que não são digeridos e absorvidos no intestino delgado de indivíduos saudáveis. Esta fração do amido apresenta comportamento similar ao da fibra alimentar e tem sido relacionada a efeitos benéficos locais, no intestino grosso, e sistêmicos, através de uma série de mecanismos (LOBO; SILVA, 2003). O AR representa a fração do amido que não será absorvido na forma de glicose pelo organismo, mas será fermentada pela microbiota do intestino grosso para produzir, principalmente, gases, como o dióxido de carbono, metano e hidrogênio, ácidos orgânicos, como por exemplo, o ácido lático e AGCC, como o butirato, acetato e propionato (NUGENT, 2005; WALTER, 2005).

O AR possui efeitos fisiológicos importantes no cólon, a maioria dos quais ocorrem provavelmente devido à ação dos AGCC produzidos (DRONAMRAJU et al., 2008). Os AGCC são produtos de degradação bacteriana no cólon, principalmente no cólon proximal, onde a fermentação é maior. As bactérias anaeróbias estritas bacteróides, eubactérias, bifidobactérias e clostrídios são as maiores responsáveis pela fermentação do AR (SALGADO et al., 2005). Os AGCC e o lactato produzidos no processo reduzem o pH intestinal, produzindo ambiente mais favorável para lactobacilos e bifidobactérias, o que inibe a proliferação de bactérias patogênicas como *Escherichia coli* ou *Clostridium difficile* (KLEESSEN, 1997). Isto torna o AR um importante prebiótico. Prebióticos são definidos como substratos de crescimento especificamente direcionados para bactérias benéficas, já residentes no cólon. São ingredientes alimentares não digeríveis que estimulam o crescimento e a atividade

metabólica de bactérias no cólon, melhorando assim a saúde do hospedeiro (NUGENT, 2005; MACFARLANE; MACFARLANE; CUMMINGS, 2006). Dentre os efeitos positivos do AR na saúde do cólon estão o aumento da taxa de produção das células da cripta, redução da atrofia do epitélio do cólon em comparação a dietas sem fibras (SAJILATA; SINGHAL; KULKARNI, 2006), favorecimento da vasodilatação, aumento da absorção de água e eletrólitos, prevenção de colite ulcerativa, diminuição do risco de câncer de cólon, redução da constipação, inibição da síntese de colesterol e melhor controle do diabetes devido ao baixo índice glicêmico (POLESI, 2011). Ainda, os AGCC foram envolvidos na regulação da expressão de genes e de mecanismos celulares envolvidos na restrição da adipogênese, diminuição do desenvolvimento de resistência insulínica, controle do status inflamatório e manutenção da integridade da barreira intestinal em estudos com seres humanos e ratos (BELOBRAJDIC et al., 2012).

O amido é o principal nutriente responsável pela modulação da resposta pós-prandial de glicose e insulina séricas em animais, e uma maior disponibilidade do amido para digestão provoca antecipação e intensificação do pico de glicose e insulina no sangue (MILLA et al., 1996; SUNVOLD et al., 1995; SUNVOLD, 1996; JENKINS et al., 1998; APPLETON et al., 2004). Dentre os fatores dietéticos que influenciam a resposta pós-prandial de glicose e insulina tem-se: a natureza química dos carboidratos, especialmente as proporções de amilose e amilopectinas (BEHALL et al., 1988; BEHALL et al., 1989); proteína e gordura (NUTTALL et al., 1984; NGUYEN et al., 1994); fibra dietética (NISHIMUNE et al., 1991) e processamento do alimento (HOLSTE et al., 1989).

O controle glicêmico pode estar prejudicado em alguns estágios fisiológicos, como no envelhecimento, e em condições patológicas (NELSON et al., 1990; KAHN et al., 2001). A utilização de dietas que estabilizem a resposta glicêmica pós-prandial pode proporcionar melhores condições de sobrevivência aos animais nestas condições (BRAND-MILLER, 1994; FAO, 1998; BOUCHARD & SUNVOLD, 1999), e o uso do AR tem-se mostrado útil em modelos animais e em estudos com humanos. Em ratos, o uso de dietas com teores elevados de AR induziu menores flutuações de glicose e insulina ao longo do dia e menores picos de insulina em alguns horários do dia (ZHOU et al., 2008). Em suínos, foi observado que o grupo que consumiu dieta

com alto teor de AR apresentou menores concentrações de insulina na circulação portal 30 e 60 minutos após o consumo de alimento e menor área abaixo da curva de insulina do que animais que consumiram dieta com baixo teor de AR (REGMI et al., 2011). Em seres humanos, após refeição com carboidrato com elevado teor AR, foram observados menores picos e menores áreas abaixo da curva (AAC) de glicose e insulina plasmáticos em comparação com a refeição contendo carboidrato altamente digestível (RABEN et al., 1994).

No estudo anterior, mesmo após o consumo prévio de apenas uma refeição com AR, as concentrações de glicose e insulina plasmáticas de seres humanos saudáveis foram reduzidas na refeição seguinte (ROBERTSON et al. 2003). Este efeito prolongado incidindo sobre a refeição seguinte do AR pode ser explicado pelo efeito dos AGCC na liberação de hormônios incretinos, que por sua vez pode melhorar o metabolismo de carboidratos dos animais (DENG et al., 2013). A incretina GLP-1 (do inglês, glucagon-like peptide-1), que estimula a secreção de insulina, inibe a secreção de glucagon e retarda o esvaziamento gástrico (HOLST, 1997), seria um dos hormônios secretados após a fermentação e produção de AGCC pela microbiota no cólon. Outra incretina que possui relação com a fibra fermentável é o peptídeo tirosina-tirosina (PYY), que cruza a barreira hematoencefálica e age no núcleo arqueado do hipotálamo, estimulando neurônios que dão saciedade (BATTERHAM et al., 2002). Ambos hormônios, GLP-1 e PYY, contribuem para a parada ileal, retardam o esvaziamento gástrico e o trânsito intestinal (WEN et al., 1995), o que pode contribuir na saciedade (HOUPY, 1982). Um retardo no esvaziamento gástrico pode retardar a digestão do amido e a absorção subsequente de glicose (HOLT et al., 1979), portanto mantendo as respostas pós-prandiais de glicose e insulina mais estáveis (ROBERFROID, 1993).

O grau de moagem dos grãos e do amido também pode interferir na resposta glicêmica pós-prandial. A moagem dos grãos na indústria de rações está intimamente relacionada com a eficiência do processo de produção dos alimentos, e a moagem fina com baixa granulometria dos ingredientes, utilizando-se peneira de até 1,6 mm, é amplamente utilizada para melhorar o aspecto visual do produto, independentemente das características nutricionais obtidas neste processamento (ROKEY & HUBER, 1994). Estudos em humanos mostram que o formato e estrutura

dos grãos processados apresentam impacto significativo sobre a resposta pós-prandial de insulina e glicose (O'DEA; NESTEL; ANTONOFF, 1980; JUNTUNEN et al., 2002); uma maior moagem dos grãos está relacionada a menor sensação de saciedade e níveis elevados de glicose e insulina pós-prandial (HOLT & MILLER, 1994; PEREIRA et al., 2002). Em outro estudo, observou-se que pacientes humanos obesos que consumiram, por um período de seis semanas, uma dieta com grãos integrais apresentaram menor resistência à insulina do que os pacientes que ingeriram uma dieta à base de grãos refinados (PEREIRA et al., 2002). Isso ocorre, possivelmente, devido à menor digestibilidade do amido por ocasião da moagem grossa, uma vez que a manutenção do amido em grãos ou sementes apenas parcialmente moídos reduz a acessibilidade das enzimas digestivas ao mesmo (SNOW; O'DEA, 1981; ENGLYST et al., 1992).

### **3. Hipótese**

O consumo de AR é capaz de modular as respostas glicêmicas e insulínicas pós-prandiais de cães idosos, resultando em benefício ao metabolismo de carboidratos nestes animais e melhora do quadro de resistência insulínica que se instala em decorrência do envelhecimento.

### **4. Objetivos**

Com base no exposto, foi avaliado o efeito do consumo de uma mesma formulação de ração, processada para se obter elevado cozimento e baixo amido resistente ou baixo cozimento e elevado amido resistente sobre a digestibilidade dos nutrientes, produtos da fermentação nas fezes e resposta pós-prandial de glicose e insulina em cães adultos e idosos.

## 5. Referências Bibliográficas

ADAMS, V. J.; EVANS, K. M.; SAMPSON, J.; WOOD, J. L. N. Methods and mortality results of a health survey of purebred dogs in the UK. **Journal of Small Animal Practice**, 51(10), p. 512-524, 2010.

ALLES, G. Particle reduction technology. In: KVAMME, J. L.; PHILLIPS, T. D. **Petfood Technology**. Illinois: Mt. Morris, 2003, p. 327-335.

ANFALPET (Associação Nacional dos Fabricantes de Alimentos para Animais de Estimação). **Manual do Programa Integrado de Qualidade Pet**, p.238, São Paulo, 2011.

AMERAH, A. M.; RAVINDRAN, V.; LENTLE, R. G.; THOMAS, D. G. Feed particle size: implications on the digestion and performance of poultry. **World's Poultry Science Journal**, v.63, p. 439–55, 2007.

APPLETON, D. J.; RAND, J. S.; PRIEST, J.; SUNVOLD, G. D.; VICKERS, J. R. Dietary carbohydrate source affects glucose concentrations, insulin secretion, and food intake in overweight cats. **Nutrition Research**, v. 24, p. 447-467, 2004.

BATTERHAM, R. L.; COWLEY, M. A.; SMALL, C. J.; HERZOG, H.; COHEN, M. A.; DAKIN, C. L.; WREN, A. M.; BRYNES, A. E.; LOW, M. J.; GHATEI, M. A.; CONE, R. D.; BLOOM, S. R. Gut hormone PYY3-36 physiologically inhibits food intake. **Nature**, v. 418, n. 6898, p. 650-654, 2002.

BAZOLLI, R. S. **Influência do grau de moagem de ingredientes amiláceos utilizados em rações extrusadas sobre os aspectos digestivos e respostas metabólicas em cães**. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2007. 72p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, 2007.

BEHALL, K. M.; SCHOLFIELD, D. J.; CANARY, J. Effect of starch structure on glucose and insulin responses in adults. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 47, p. 428-432, 1988.

BEHALL, K. M.; SCHOLFIELD, D. J.; YUHANIYAK, I.; CANARY, J. Diets containing high amylose vs. amylopectin starch: Effect on metabolic variables in human subjects. **American Journal of Clinical Nutrition**., v. 49, p. 337-344, 1989.

BELOBRAJDIC, D. P.; KING, R. A.; CHRISTOPHERSEN, C. T.; BIRD, A. R. Dietary resistant starch dose-dependently reduces adiposity in obesity-prone and obesity-resistant male rats. **Nutrition & Metabolism**, 9(1) p. 1, 2012.

BERGMAN, R. N. Toward Physiological Understanding of Glucose Tolerance: Minimal-Model Approach. **Diabetes**, v. 38, n. 12, p. 1512–1527, 1989.

BHASHYAM, S.; PARIKH, P.; BOLUKOGLU, H.; SHANNON, A. H.; PORTER, J. H.; SHEN, Y. T.; SHANNON, R. P. Aging is associated with myocardial insulin resistance and mitochondrial dysfunction. **American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology**, 293(5), H3063–71, 2007.

BOUCHARD, G. F.; SUNVOLD, G. D. Improving canine glycemic response to a meal with dietary starch. In: THE NORTH AMERICAN VETERINARY CONFERENCE, 1999, ORLANDO. **Proceedings Recent advances in clinical management of diabetes mellitus**, Orlando: The Iams Company Press, 1999. p. 16-19.

BRAND MILLER, J.C. Importance of glycemic index in diabetes. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 59S, p. 747-752, 1994.

BURKHOLDER, W. J. Age-related changes to nutritional requirements and digestive function in adult dogs and cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 215, n. 5, p. 625-629, 1999.

CHUANG, G. C.; YEH, A. Effect of screw profile residence time distribution and starch gelatinization of rice flour during single screw extrusion cooking. **Journal of Food Engineering**, v. 63, p. 21-31, 2004.

CRANE, S. W.; GRIFFIN, R. W.; MESSENT, P. R. Introduction to commercial pet foods. In: HAND, M. et al. **Small Animal Clinical Nutrition**, 4ed Kansas: Mark Morris Institute, 2000. P. 111-126.

DOZIER, W.A. Reducing utility cost in the feed mill. **Watt Poultry USA**, vol. 53, p. 40-44, 2002.

DEBRAEKELEER, J.; GROSS, K. L.; ZICKER, S. C. Feeding Mature Adult Dogs: Middle Aged and Older. In: Hand, M.; Thatcher, C.; Remilard, R.; Roudebush, P.; Novotny, B. **Small Animal Clinical Nutrition**. Mark Morris Institute, p.273-280, 2010.

DENTON, R. M.; TAVARÉ, J. M. Molecular basis of insulin action on intracellular metabolism. In: Alberti KGMM, Zimmet P, Defronzo RA, Keen H (Hon), editors. **International Textbook of Diabetes Mellitus**, 2nd ed. John Wiley & Sons, New York; 1997 p. 469-88.

DENG, P.; BELOSHAPKA, A. N.; BOLER, B. M. V.; SWANSON, K. S. Dietary fibre fermentability but not viscosity elicited the 'second-meal effect' in healthy adult dogs. **British Journal of Nutrition**, 110(05), 960-968, 2013.

DING, Q. B.; AINSWORTH, P.; TUCKER, G.; MARSON, H. The effect of extrusion conditions on the physicochemical properties and sensory characteristics of rice-based expanded snacks. **Journal of Food Engineering**, 66(3), 283-289, 2005.

DRONAMRAJU, S. S.; COXHEAD, J. M.; KELLY, S. B.; BURN, J.; MATHERS, J. C. Cell kinetics and gene expression changes in colorectal cancer patients given resistant starch: a randomised controlled trial. **Gut**, 58: p. 413-420, 2009.

ENGLYST, H. N.; KINGMAN, S. M.; CUMMINGS, J. H. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 46, n.2, p.s33-s50, 1992.

FAHEY JUNIOR, G. C.; BARRY, K. A.; SWANSON, K. S. Age-related changes in nutrient utilization by companion animals. **The Annual Review of Nutrition**, v. 28, p. 425-445, 2008.

FAO. 1998. Carbohydrates in human nutrition: a Joint FAO/WHO Report. Rome, 1998. FAO (Food and Nutrition Paper 66).

FICK, L. J.; FICK, G. H.; LI, Z.; CAO, E.; BAO, B.; HEFFELFINGER, D.; RIABOWOL, K. Telomere length correlates with life span of dog breeds. **Cell Reports**, 2(6), p. 1530-1536, 2012.

FORTNEY, W. Declining Physiological Reserves: Defining Aging. In: PROCEEDINGS OF THE COMPANION ANIMAL NUTRITION SUMMIT - FOCUS ON GERONTOLOGY, Clearwater. **Proceedings...** Clearwater, p. 01-05, 2010.

FRAIHA, M., 2005. Benefício do investimento energético na redução do tamanho de partículas na alimentação animal. In: SIMPÓSIO DE ENGENHARIA DE PRODUÇÃO, 9, Bauru, **Anais...**,

HAYEK, M. G.; DAVENPORT, G. M. Nutrition and aging in companion animals. **Journal of Anti-Aging Medicine**, 1(2), p. 117-123, 1998.

HEALY, B. J.; HANCOCK, J. D.; KENNEDY, G. A.; BRAMEL-COX, P. J.; BEHNKE, K. C.; HINES, R. H. Optimum particle size of corn and hard and soft sorghum for nursery pigs. **Journal of Animal Science**, v. 72, p. 22-27, 1994.

HERDT, T. Utilização de Nutrientes após a Absorção. In: **Tratado de Fisiologia Veterinária**. 2ª Ed, cap. 31, p. 284-306, 1999.

HOLST, J. J. Enteroglucagon. **Annual review of physiology**, v. 59, p. 257-71, jan. 1997.

HOLSTE, L. C.; NELSON, R. W.; FELDMAN, E. C.; BOTTOMS, G. D. Effect of dry, soft moist, and canned dog foods on postprandial blood glucose and insulin concentrations in healthy dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 50, n. 6, p. 984-9, 1989.

HOLT, S.; CARTER, D.; TOTHILL, P.; HEADING, R.; PRESCOTT, L. Effect of gel fibre on gastric emptying and absorption of glucose and paracetamol. **Lancet**, v. 1, n. 8117, p. 636–9, 24, 1979.

HOLT, S. H. A.; MILLER, J. B. Particle size, satiety and glycaemic response. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 48, p. 496-502, 1994.

HOUPT, K. A. Gastrointestinal factors in hunger and satiety. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 6, n. 2, p. 145–64, 1982.

JENKINS, D. J.; VUKSAN, V.; KENDALL, C. W. C.; WÜRSCH, P.; JEFFCOAT, R.; WARING, S.; MEHLING, C. C.; VIDGEN, E.; AUGUSTIN, L. S. A.; WONG, E. Physiological effects of resistant starches on fecal bulk, short chain fatty acids, blood lipids and glycemic index. **Journal of American College of Nutrition**, v. 17, n. 6, p. 609-616, 1998.

JUNTUNEN, K. S.; NISKANEN, L. K.; LIUKKONEN, K. H.; POUTANEN, K. S.; HOLST, J. J.; MYKKÄNEN, H. M. Postprandial glucose, insulin, and incretin responses to grain products in healthy subjects. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 75, n. 2, p. 254-262, 2002.

KAHN, S.E.; PRIGEON, R. L.; SCHWARTZ, R. S.; FUJIMOTO, W. Y.; KNOPP, R. H.; BRUNZELL, J. D.; PORTE, D. Obesity, body fat distribution, insulin sensitivity and islet b-cell function as explanations for metabolic diversity. **Journal of Nutrition**, v. 131, p. 354S-360S, 2001.

KIDO, Y.; NAKAE, J.; ACCILI, D. The Insulin Receptor and Its Cellular Targets 1. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 86, n. 3, p. 972-979, 2001.

KLEESSEN, B.; STOOF, G.; PROOL, J.; SCHMIEDL, D.; NOACK, J.; BLAUT, M. Feeding resistant starch affects fecal and cecal microflora and short-chain fatty acids in rats. **Journal of Animal Science**, 75: p. 2453-2462, 1997.

KOHLMEIER, Martin. **Nutrient Metabolism: Structures, Functions, and Genetics**. Academic Press, 2003.

KOVATCHEVA-DATCHARY, P.; EGERT, M.; MAATHUIS, A.; RAJILIC-STOJANOVIC, M.; DE GRAAF, A. A.; SMIDT, H.; DE VOS, W. M.; VENEMA, K. Linking phylogenetic identities of bacteria to starch fermentation in an in vitro model of the large intestine by RNA-based stable isotope probing. **Environmental Microbiology**, 11(4), p. 914-26, 2009.

LARSON, B. T.; LAWLER, D. F.; SPITZNAGEL, E. L.; KEALY, R. D. Improved glucose tolerance with lifetime diet restriction favorably affects disease and survival in dogs. **Journal of Nutrition**, 133(9), p. 2887-2892, 2003.

LAWLER, D. F.; BALLAM, J. M.; MEADOWS, R.; LARSON, B. T.; LI, Q.; STOWE, H. D.; KEALY, R. D. Influence of lifetime food restriction on physiological variables in Labrador retriever dogs. **Experimental Gerontology**, 42(3), p. 204-214, 2007.

LEBOVITZ, H. E. Insulin resistance: definition and consequences. **Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes: official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association**, 109, S135-48, 2000.

LI, Y.; DEEB, B.; PENDERGRASS, W.; WOLF, N. Cellular proliferative capacity and life span in small and large dogs. **The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences**, 51(6), B403-B408, 1996.

LOBO, A. R.; SILVA, G. M. L. Amido resistente e suas propriedades físico-químicas. **Revista de Nutrição**, v. 16, n. 2, p. 219-226, 2003.

MACFARLANE, S.; MACFARLANE, G. T.; CUMMINGS, J. H. Review article: prebiotics in the gastrointestinal tract. **Alimentary Pharmacology and Therapeutics**, 24, p. 701-714, 2006.

MARKHAM, R.W.; HODGKINS, E.M. Geriatric nutrition. **The Veterinary Clinics of North America, Small Animal Practice**, v.19, n.1, p.165-185, 1989.

MILLA, C.; DOHERTY, L.; RAATZ, S.; SCHWARZENBERG, S. J.; REGELMANN, W.; MORAN, A. Glycemic response of dietary supplements in cystic fibrosis is dependent on the carbohydrate content of the formula. **Journal of Enteral Nutrition**, v. 20, p. 182-186, 1996.

MORAES, E. M. **Princípios básicos de geriatria e gerontologia**. Belo Horizonte: Coopemed; 2008. 700 p.

MORI, N.; KAWASUMI, K.; ARAI, T. Comparison of the plasma insulin and adiponectin concentrations as metabolic markers in clinically healthy dogs with ageing. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, 11(7), p. 971-974, 2012.

MORINO, K.; PETERSEN, K. F.; SHULMAN, G. I. Molecular mechanisms of insulin resistance in humans and their potential links with mitochondrial dysfunction. **Diabetes**, v. 55, n. Supplement 2, p. S9-S15, 2006.

MUIR, J. G.; YOUNG, G. P.; O'DEA, K. Resistant Starch – Implications for Health. **Proceedings Nutrition Society of Australia**, 18, p. 23-32, 1994.

Nacional Research Council (US) Ad Hoc Committee on Dog and Cat Nutrition: **Nutrient Requirements of Dogs and Cats**, 2006. Rev. National Academies Press, Washington, DC.

NELSON, R. W.; HIMSEL, C. A.; FELDMAN, E. C.; BOTTOMS, G. D. Glucose tolerance and insulin response in normal-weight and obese cats. **American Journal of Veterinary Research**, 51(9), p. 1357-1362, 1990.

NGUYEN, P.; DUMON, H.; BUTTIN, P.; MARTIN, L.; GOURO, A. S. Composition of meal influences changes in postprandial incremental glucose and insulin in healthy dogs. **Journal of Nutrition**, 124(12), 2707S, 1994.

NISHIMUNE, T.; YAKUSHIJI, T.; SUMIMOTO, T.; TAGUCHI, S.; KONISHI S.; NAKAHARA, S.; ICHIKAWA, T.; KUNITA, N. Glycemic response and fiber content of some foods. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 54, p. 414-419, 1991.

NUGENT, A. P. Health properties of resistant starch. **Nutrition Bulletin**, 30, 27–54, 2005.

NUTTALL, F. Q.; MOORADIAN, A. D.; GANNON, M. C.; BILLINGTON, C.; KREZOWSKI, P. Effect of protein ingestion on the glucose and insulin response to a standardized oral glucose load. **Diabetes care**, 7(5), p. 465-470, 1984.

O'DEA, K.; NESTEL, P. J.; ANTONOFF, L. Physical factors influencing postprandial glucose and insulin responses to starch. **American Journal of Clinical Nutrition**, 33, p. 760-765, 1980.

OSELLA, M. C.; RE, G.; ODORE, R.; GIRARDI, C.; BADINO, P.; BARBERO, R.; BERGAMASCO, L. Canine cognitive dysfunction syndrome: prevalence, clinical signs and treatment with a neuroprotective nutraceutical. **Applied Animal Behaviour Science**, 105(4), 297-310, 2007

OWENS, J. M.; HEIMANN, M. Material processing cost center In: McELLINEY, R. R. **Feed Manufacturing Technology IV**. Arlington:VA, 1994, p. 81-92.

PEREIRA, M. A.; JACOBS, D. R.; PINS, J. J.; RAATZ, S. K.; GROSS, M. D.; SLAVIN, J. L.; SEAQUIST, E. R.. Effect of whole grains on insulin sensitivity in overweight hyperinsulinic adults. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 75, p. 848-855, 2002.

POLESI, L. F. Amido Resistente: Aplicações e Métodos de Produção. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 29, n. 2, p. 211-222, 2011.

QUESADA, I.; TUDURÍ, E.; RIPOLL, C.; NADAL, Á. Physiology of the pancreatic  $\alpha$ -cell and glucagon secretion: role in glucose homeostasis and diabetes. **Journal of Endocrinology**, 199(1), p. 5-19, 2008.

RABEN, A.; TAGLIABUE, A.; CHRISTENSEN, N. J.; MADSEN, J.; HOLST, J. J.; ASTRUP, A. Resistant starch: the effect on postprandial glycemia, hormonal

response, and satiety. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 60, n. 4, p. 544–51, 1994.

REGMI, P. R.; VAN KEMPEN, T. A.; MATTE, J. J.; ZIJLSTRA, R. T. Starch with high amylose and low in vitro digestibility increases short-chain fatty acid absorption, reduces peak insulin secretion, and modulates incretin secretion in pigs. **The Journal of Nutrition**, v. 141, n. 3, p. 398–405, 2011.

RESCHSTEINER, M. S. **Produção, digestibilidade e amido resistente em biscoitos extrusados a partir da farinha e fécula de batata doce e mandioca**. 2005. 92 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2005.

RESPONDEK, F.; SWANSON, K. S.; BELSITO, K. R.; VESTER, B. M.; WAGNER, A.; ISTASSE, L.; DIEZ, M. Short-chain fructooligosaccharides influence insulin sensitivity and gene expression of fat tissue in obese dogs. **The Journal of Nutrition**, v. 138, n. 9, p. 1712–8, set. 2008.

RIAZ, M. N. Extrusion basics. In: KVAMME, J. L.; PHILLIPS, T. D. **Petfood Technology**. Illinois Mt Morris, 2003, p. 347-360.

ROBERFROID, M. Dietary fiber, inulin, and oligofructose: a review comparing their physiological effects. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 33, n. 2, p. 103–48, 1993.

ROBERTI-FILHO, F. O. **Influência da granulometria da matéria prima e da configuração de extrusora no conteúdo de amido resistente, digestibilidade, fermentação intestinal e respostas metabólicas de cães**. 2013. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2013.

ROBERTSON, M. D.; CURRIE, J. M.; MORGAN, L. M.; JEWELL, D. P.; FRAYN, K. N. Prior short-term consumption of resistant starch enhances postprandial insulin sensitivity in healthy subjects. **Diabetologia**, v. 46, n. 5, p. 659–65, 2003.

ROKEY, G.; HUBBER, G. Pet foods In: McELLINEY, R. R. **Feed Manufacturing Technology IV**. Arlington:VA, 1994, p. 479-493

SAJILATA, M. G.; SINGHAL, R. S.; KULKARNI, P. R. Resistant Starch-A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, vol 5, 2006.

SALGADO, S, M.; FARO, Z. P.; GUERRA, N .B.; LIVERA, A. V. S. Aspectos Físico-Químicos e Fisiológicos do Amido Resistente. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 23(1), p. 109-122, 2005.

SNOW, P.; O'DEA, K. Factors affecting the rate of hydrolysis of starch in food. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 34, n. 12, p. 2721-2727, 1981.

SORIA, B.; QUESADA, I.; ROPERO, A. B.; PERTUSA, J. A.; MARTÍN, F.; NADAL, A. Novel players in pancreatic islet signaling from membrane receptors to nuclear channels. **Diabetes**, 53(suppl 1), S86-S91, 2004.

SUNVOLD, G. D.; FAHEY, G. C.; MERCHEN, N. R.; BOURQUIN, L. D.; TITGEMEYER, E. C.; BAUER, L. L.; REINHART, G. A. Dietary fiber for cats: in vitro fermentation of selected fiber sources by cat fecal inoculum and in vivo utilization of diets containing selected fiber sources and their blends. **Journal of Animal Science**, 73(8), p. 2329-2339, 1995.

SUNVOLD, G. D. Dietary fiber for dogs and cats: An historical perspective. In: IAMS INTERNATIONAL NUTRITION SYMPOSIUM, 1996, Wilmington. **Proceeding of the Recent Advances in Canine and Feline Nutrition Research**, Wilmington: Orange Frazer press, 1996. p. 3-14

THOMPSON, D. B. Strategies for the manufacture of resistant starch. **Trends in Food Science & Technology**, v. 11, n. 7, p. 245-253, 2000.

WALKER, M.; FULCHER, G. R.; ALBERTI, K. G. M. M. The assessment of insulin action in vivo. In: ALBERTI, K. G. M. M.; ZIMMET, P.; DEFRONZO, R. A.; KEEN, H. (eds): **International Textbook of Diabetes Mellitus**, 2<sup>nd</sup> Ed., p. 595-610, John Wiley and Sons, Chichester, 1997.

WALTER, M. **Amido Resistente: Metodologias de Quantificação e Resposta Biológica em Ratos**. 2005. 96 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2005.

WEN, J.; PHILLIPS, S. F.; SARR, M. G.; KOST, L. J.; HOLST, J. J. PYY and GLP-1 contribute to feedback inhibition from the canine ileum and colon. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, 269(6), G945-G952, 1995.

WILCOX, G. Insulin and insulin resistance. **Clinical Biochemist Reviews**, v. 26, n. 2, p. 19, 2005.

ZHOU, J.; MARTIN, R. J.; TULLEY, R. T.; RAGGIO, A. M.; MCCUTCHEON, K. L.; SHEN, L.; KEENAN, M. J. Dietary resistant starch upregulates total GLP-1 and PYY in a sustained day-long manner through fermentation in rodents. **American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism**, v. 295, n. 5, p. E1160–6, nov. 2008

## **CAPÍTULO 2 - Envelhecimento e amido resistente sobre a resposta pós-prandial de glicose e insulina em cães<sup>a</sup>**

E. M. Ribeiro, M. C. Peixoto, T. C. Putarov, M. Monti, P. D. G. Pacheco, B. A. Loureiro, A. C. Carciofi

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP - Univ Estadual Paulista. Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, Jaboticabal, SP 14.884-900, Brazil

**Correspondence** Dr. A. C. Carciofi, Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, 14884-900, Jaboticabal, SP Brazil. Tel: +55 16 3209 2626; Fax: +55 16 3203 1226; E-mail: aulus.carciofi@gmail.com

<sup>1</sup> Escrito nas normas da revista Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition

## Resumo

Este estudo avaliou os efeitos do consumo de amido resistente (AR) em cães adultos e idosos sobre a digestibilidade dos nutrientes, produtos de fermentação e respostas pós-prandiais de glicose e insulina. Uma formulação foi processada de dois modos, originando rações com baixo (0,21%) e elevado (1,46%) teores de AR. Os dados de consumo, digestibilidade e produtos de fermentação foram avaliados pela função GLM do SAS, considerando delineamento em blocos casualizados no tempo (cross over), com tratamentos no esquema fatorial em dois níveis de idade e dois níveis de ração. Utilizou-se análise de variância de medidas repetidas no tempo para avaliar os efeitos da dieta e do tempo sobre as respostas pós-prandiais de glicose e insulina. A digestibilidade da proteína foi maior na dieta baixo AR. Os cães adultos produziram fezes com maiores volume, umidade e pH, bem como maiores concentrações de ácido acético, ácidos graxos de cadeia curta e voláteis. A ração alto AR induziu fezes com maiores concentrações de ácidos propiônico e butírico; nos cães idosos também elevou a concentração de lactato, corroborando o menor pH das fezes deste grupo. A amônia fecal foi maior nos idosos; a ração alto AR reduziu estas concentrações neste grupo. As glicemias mínimas e médias foram maiores nos adultos, assim como as áreas abaixo da curva (AAC) de glicose nos períodos 0-120', 0-240', 0-720' e 420-720'. Nos idosos a AAC de insulina foi maior no período 240-720' e as áreas abaixo do incremento de insulina maiores no período 240-720' e 420-720'; neste período reduziu quando consumiram ração alto AR. Apesar dos efeitos encontrados nos produtos de fermentação e pH das fezes, poucas alterações foram observadas nos parâmetros de glicose e insulina, necessitando-se novos estudos para melhor compreensão dos efeitos da idade e do AR sobre o metabolismo de carboidratos nos cães.

Palavras-chave: carboidrato, metabolismo, prebiótico, senilidade.

## Abstract

This study evaluated the effects of resistant starch (RS) consumption in adult and elderly dogs on nutrient digestibility, fermentation products and postprandial glucose and insulin responses. The same formulation was processed in two different ways, producing diets with low (0.21%) and high (1.46%) RS levels. Consumption, digestibility and fermentation products data were evaluated by SAS GLM function considering a randomized block design in time (cross over), with treatments in a factorial design in two age levels and two feed levels. We used analysis of variance of repeated measurements over time to assess the effects of diet and time on postprandial glucose and insulin responses. The protein digestibility was greater in the diet with low RS. Adult dogs produced feces with higher volume, water content and pH, as well as higher concentrations of acetic acid, short chain and volatile fatty acids. Consumption of high AR diet produced faeces with higher concentrations of propionic and butyric acids, and in elderly group this diet also increased the concentration of lactate, corroborating the lowest pH of stools in this age group. Fecal ammonia was higher in the elderly dogs, and the consumption of high RS feed by this age group reduced these concentrations. The minimum and average blood glucose levels were higher in adult dogs, as well as glucose areas under the curve during periods 0-120', 0-240', 0-720' and 420-720'. In the elderly, insulin area under the curve was higher in the period 240-720' and incremental insulin area under the curve increased during the periods 240-720' and 420-720'; this decreased when high AR diet was consumed. Although the effects in the concentrations of fermentation products and stool pH, few findings were observed in parameters of glucose and insulin, necessitating further studies to elucidate the effects of age and RS on carbohydrate metabolism in dogs.

Keywords: carbohydrate, metabolism, prebiotic, senility

## Introdução

O envelhecimento dos cães traz consigo alterações fisiológicas em diversos sistemas orgânicos (Burkholder, 1999; Laflamme, 2005). Foi demonstrada em cães idosos menor sensibilidade à ação da insulina, evidenciada por maiores concentrações basais do hormônio para manter concentrações semelhantes de glicose em relação à cães adultos (Larson et al., 2003; Bhashyam et al., 2007; Mori et al., 2012). A resposta insulínica ao teste intravenoso de tolerância à glicose e o tempo de retorno às concentrações basais de insulina aumentam com a idade (Larson et al., 2003). Acredita-se que exista redução na sensibilidade insulínica com o avançar da idade, o que explicaria secreção compensatória do hormônio visando promover adequada captação de glicose e tolerância aos carboidratos (Bergman, 1989). Não está claro, ainda, as possíveis implicações à saúde deste fato, mas aventa-se que menor secreção de insulina se correlacione a menor incidência de doenças crônicas e morte (Larson et al., 2003).

Alternativas à apresentação convencional dos carboidratos podem ser importantes em situações de intolerância à glicose ou redução da sensibilidade à insulina (Bouchard e Sunvold, 1999; Teshima et al., 2010). Durante a produção de alimentos extrusados para cães, os cereais são finamente moídos e extensamente cozidos, visando-se bom aproveitamento dos nutrientes e formação de fezes (Bazolli et al., 2005). É possível que moagem mais grosseira, limitação do cozimento e presença de amido resistente (AR) mude o padrão digestivo e absorptivo, favorecendo o metabolismo de carboidratos. O AR é um prebiótico, composto pelo amido e seus produtos de degradação não digeridos e absorvidos no intestino

delgado, fermentados no intestino grosso (Nugent, 2005). Poucos estudos em cães avaliaram o uso de prebióticos e seus impactos sobre o metabolismo e respostas sistêmicas (Respondek et al., 2008; Beloshapka et al., 2014). É possível que a absorção de ácidos graxos de cadeia curta derivados da fermentação intestinal de AR, bem como o consumo de alimento com cereais menos processados module as respostas glicêmicas e insulínicas pós-prandiais de cães idosos, alterando o metabolismo de carboidratos destes animais. Desta forma, foi avaliada a digestibilidade dos nutrientes, produtos de fermentação nas fezes e respostas pós-prandiais de glicose em cães adultos e idosos, alimentados com uma mesma formulação de alimento processada para se obter elevado cozimento e baixo teor de AR ou baixo cozimento e elevado teor de AR.

## **Material e métodos**

O protocolo experimental foi realizado de acordo com os princípios éticos adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), UNESP – Univ. Estadual Paulista Campus de Jaboticabal (Protocolo nº 015291/14).

### ***Animais e delineamento experimental***

Foram utilizados 16 cães Beagle, sendo 8 adultos, 4 machos e 4 fêmeas, com idade de  $4,0 \pm 0,7$  anos e peso corporal de  $12,3 \text{kg} \pm 0,5 \text{ kg}$ , e 8 idosos, 6 machos e 2

fêmeas, com  $11,5 \pm 0,4$  anos e peso corporal de  $12,3 \pm 0,4$  kg. O escore de condição corporal (ECC) do grupo adulto foi  $5,3 \pm 0,2$  e do grupo idoso  $5,4 \pm 0,1$ , não diferindo estatisticamente ( $P > 0,05$ ). Os cães foram considerados hígidos após avaliação clínica, hematológica, bioquímica sérica (ureia, creatinina, alanina aminotransferase, fosfatase alcalina e albumina) e coproparasitológica. Todos os cães foram provenientes do Laboratório de Pesquisa em Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos “Prof. Dr. Flávio Prada”, Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

O experimento seguiu esquema fatorial  $2 \times 2$  de tratamentos, constituído por duas rações (alto e baixo AR) e duas idades (adulto e idoso), totalizando 4 tratamentos experimentais. Este foi conduzido em delineamento do tipo *cross over*, para isto cada grupo de idade de cães foi subdividido em 2 subgrupos de 4 animais (parcela do *cross over*), que receberam aleatoriamente uma das duas rações experimentais por período de 42 dias. Desta forma, todos os animais receberam as duas rações experimentais, em uma ordem randomizada de oferecimento, totalizando 8 repetições (cães) por tratamento (combinação de ração e idade). Cada período do *cross over* teve duração de 42 dias (6 semanas) e entre estes houve período de 30 dias de eliminação, quando todos os cães receberam a mesma dieta comercial utilizada para alimentação dos animais do canil (Guabi Sabor e Vida, Guabi Petcare, Campinas, Brasil. Composição declarada: 21% de proteína, 10% de extrato etéreo, 3% de fibra bruta e 8% matéria mineral). Cada período do *cross over* ficou assim distribuído: dia 1 ao 28 para adaptação ao alimento; dia 29 a 34 para coleta total de fezes para o ensaio de digestibilidade e

avaliação dos produtos de fermentação; dia 35 avaliação das respostas pós-prandiais de glicose e insulina.

Durante o período de adaptação os cães permaneceram em baias com solário, com dimensões de 1,5m x 4,5m, sendo soltos diariamente em gramado com 200m<sup>2</sup> para prática voluntária de exercícios. Durante o período de coleta de fezes os cães foram alojados em gaiolas metabólicas individuais em inox, com dimensões de 90 x 90 x 90 cm, equipadas com aparato para coleta separada de fezes e urina. A quantidade de ração administrada foi inicialmente calculada de acordo com o valor energético da ração, estimado com base em sua composição química e a necessidade energética de cães de canil, de 130 kcal/kg<sup>0,75</sup>, de acordo com o preconizado pelo *Nutritional Requirements of Dogs and Cats* (NRC, 2006). Os cães foram, então, pesados semanalmente e a quantidade oferecida ajustada para que mantivessem peso corporal constante durante todo o ensaio. A quantidade total diária de ração foi dividida em duas refeições iguais, fornecidas às 9h e às 15h. Água foi fornecida à vontade.

### ***Dietas experimentais***

As dietas experimentais se constituíram em uma mesma formulação de alimentos, processada de duas formas distintas de modo a se obter: alimento com elevado cozimento e baixo teor de AR (Baixo AR); alimento com baixo cozimento e elevado teor de AR (Alto AR). Foi formulada uma dieta para manutenção de cães, cuja composição química atendeu às recomendações nutricionais da *The European Pet Food Industry Federation* (FEDIAF, 2014), conforme descrito na Tabela 1. A partir dessa formulação única, as duas rações experimentais foram produzidas variando-se

o grau de moagem dos ingredientes e os parâmetros de extrusão das mesmas. Estas foram produzidas na Fábrica de Rações da FCAV, UNESP, Campus de Jaboticabal. Todos os ingredientes foram comprados e misturados, formando-se um lote único de produto. Este foi dividido em duas partes, a primeira foi moída em moinho de martelos (Tigre, São Paulo, SP) utilizando-se peneira com crivos de 0,5mm e a segunda peneira com crivos de 2mm, o que gerou misturas de matérias primas com diferentes granulometrias.

Tabela 1. Fórmula das rações para manutenção de cães utilizadas no experimento.

<b>Ingrediente</b>	<b>%</b>
Milho grão	54,30
Farinha de vísceras de aves	25,00
Gordura de aves	9,00
Glúten de milho, 60% proteína	5,00
Fibra de cana	2,00
Palatabilizante líquido <sup>a</sup>	3,00
Premix mineral e vitamínico <sup>b</sup>	0,30
Sal comum	0,50
Cloreto de potássio	0,48
Cloreto de colina	0,20
Antioxidante <sup>c</sup>	0,04
Calcário	0,05
Antifúngico <sup>d</sup>	0,1
L-lisina	0,03

<sup>a</sup> SPF do Brasil, Descalvado, Brasil.

<sup>b</sup> Adição por kg de produto: Ferro 100 mg, Cobre 9,25 mg, Manganês 6,25 mg, Zinco 150 mg, Iodo 1,87 mg, Selênio 0,13 mg, Vit. A 18.750 UI, Vit. D 1.500 UI, Vit. C 125 mg, Vit. K 0,15 mg, Tiamina 5 mg, Riboflavina 16 mg, Ácido pantotênico 35,75 mg, Niacina 62,5 mg, Piroxidina 7,5 mg, Cobalamina 45 mcg, Ácido fólico 0,75 mg.

<sup>c</sup> Banox, Alltech do Brasil Agroindustrial Ltda: BHA, BHT, galato de propila e carbonato de cálcio

<sup>d</sup> Mold Zap Aquativa, Alltech do Brasil Agroindustrial Ltda: propionato de amônio, propanodiol, ácido propiônico, ácido acético, ácido láctico, ácido ascórbico, ácido fórmico, sorbato de potássio, veículo q.s.p.

Cada mistura, obtida a partir da moagem diferente, foi extrusada em extrusora de rosca simples com capacidade de processamento de 250 kg de ração/hora (MEX 250, Manzoni, Campinas, SP). Os equipamentos utilizados formam sistema de extrusão completo em escala laboratorial, com os mesmos componentes e princípios de funcionamento dos sistemas de extrusão comercial. Os parâmetros variáveis de processo adição de água, taxa de alimentação e velocidade da rosca extrusora permaneceram inalterados para as duas rações. Após a estabilização do sistema, a temperatura e umidade da massa no condicionador, amperagem do motor principal, pressão e temperatura de extrusão e a densidade dos kibbles foi medida a cada 10 min. A temperatura do condicionador foi mantida por meio de injeção direta de vapor em 84°C para a dieta Baixo AR e em 59°C para a Alto AR. A umidade de processamento foi a mesma, ao redor de 25% para as duas dietas. A energia mecânica específica (EME) implementada foi determinada de acordo com Riaz (2003). Esta foi modulada ajustando-se a área de vazão da extrusora, que foi estabelecida em 230 mm<sup>2</sup>/ton/h para a ração Baixo AR e em 310 mm<sup>2</sup>/ton/h para a ração Alto AR. Em função da interação entre o tamanho de partículas da matéria prima e a área de vazão, a implementação de EME variou entre as rações, sendo de 21,5±0,5 kW-h/ton para a ração Baixo AR e de 11,6±0,4 kW-h/ton para a ração Alto AR (P<0,01). A temperatura de extrusão foi de 112,8±0,7 °C e 108,2±0,7 °C, e a pressão de extrusão de 41,6±1,5 bars e 39,2±0,4 bars, para as dietas Baixo AR e Alto AR, respectivamente (P<0,05). A composição química e parâmetros de processamento das dietas experimentais encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2. Composição química analisada e parâmetros de processamento das dietas experimentais para cães processadas para se obter diferentes graus de cozimento e teores de amido resistente.

Item	Dietas <sup>1</sup>	
	Baixo AR	Alto AR
Composição química, %		
Matéria seca	95,2	95,2
Matéria mineral	8,2	7,9
Proteína bruta	26,6	26,6
Extrato etéreo hidrólise ácida	16,2	17,2
Fibra bruta	1,9	2,1
Amido	42,5	41,6
Índice de gelatinização do amido, %	99,9	62,6
Teor de Amido resistente, %	0,21	1,46
Densidade aparente, g/L	300	505
Diâmetro geométrico médio ( $\mu\text{m}$ )	224	312
Desvio padrão geométrico ( $\mu\text{m}$ )	1,5	1,7

<sup>1</sup> Baixo AR – ração finamente moída e extrusada com maior aplicação de energia mecânica específica; Alto AR – ração grosseiramente moída e extrusada com menor aplicação de energia mecânica específica.

### ***Determinação da digestibilidade dos nutrientes e análises químicas dos alimentos e fezes***

Os coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes e da energia das dietas foram determinados pelo método de coleta total de fezes, segundo recomendações da AAFCO (2009). O consumo alimentar foi registrado diariamente, pesando-se as quantidades oferecidas e recusadas de alimento em cada refeição. Durante cinco dias consecutivos (120h), as fezes foram coletadas integralmente duas vezes ao dia, as

08:00h e 17:00h, pesadas, acondicionadas em sacos plásticos e armazenadas em freezer (-20°C) para posterior análise.

Ao final do período de coleta, as fezes foram descongeladas e homogeneizadas, compondo-se uma amostra por animal e período. Na sequência foram pesadas e secas em estufa de ventilação forçada (Modelo 320-SE, FANEM, São Paulo, Brasil) a 55°C durante 72 horas. As fezes pré-secas e as rações foram moídas em moinho tipo faca (Modelo MOD 340, ART LAB, São Paulo, Brasil), com peneira de 1mm, para proceder-se as análises laboratoriais. Nas fezes e rações foram determinados, segundo metodologia descrita pela AOAC (1995), os teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo em hidrólise ácida (EEHA) e matéria mineral (MM). O amido total foi avaliado pela técnica adaptada de Karkalas (1985); Holm et al. (1986); ICC, (1995). A energia bruta (EB) das fezes e rações foi determinada em bomba calorimétrica adiabática (1281, PARR Instruments, Moline, EUA). Adicionalmente, nas rações foi determinado o conteúdo de amido resistente empregando-se as enzimas amilase e amiloglicosidase, segundo metodologia da AOAC (2002), com a utilização de kit comercial (kit K-RSTAR, Megazyme, Wicklow, Irlanda). A porcentagem de gelatinização do amido foi determinada pelo método da amiloglicosidade (Sá et al., 2013). Todas as análises laboratoriais foram conduzidas em duplicata, sendo repetidas quando variaram mais de 5%.

Com base nos resultados laboratoriais obtidos, foram calculados a energia metabolizável e os coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca, proteína bruta, matéria orgânica, extrato etéreo em hidrólise ácida, amido e energia bruta. Além destas análises, a qualidade das fezes foi determinada pelo escore fecal. Este foi determinado ao longo do período de coleta de fezes, atribuindo-se notas de 0 a 5

(Carciofi et al., 2008), sendo: 0 = fezes líquidas; 1 = fezes macias, sem forma; 2 = fezes moles, mal formadas, que assumem a forma do recipiente; 3 = fezes macias, formadas e úmidas, que mantêm a forma; 4 = fezes bem formadas e consistentes, que não aderem ao piso; 5 = fezes secas e duras, com volume reduzido.

### ***Avaliação do pH e produtos de fermentação nas fezes***

Amostras de fezes frescas (coletadas e processadas até no máximo 15 minutos após defecação) foram utilizadas para medir o pH e determinar produtos de fermentação. O pH foi determinado utilizando-se dois gramas de material fecal diluídos em seis mililitros de água miliq (1:3 w/w) e o pH medido com pH-metro de precisão 0,01 pH (Digicrom Analítica Ltda, modelo DM20). O procedimento foi realizado em cada um dos três dias de coleta e a média destes valores empregada no estudo.

Para a análise dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e ácidos graxos de cadeia ramificada (AGCR) 10 gramas de fezes frescas foram homogeneizadas e misturadas com 30 ml de ácido fórmico 4,2 N (1:3 w/w). O procedimento foi repetido durante três dias de coleta. A mistura foi centrifugada a 4.500 G durante 15 minutos a 15°C por três vezes, aproveitando-se o sobrenadante e desprezando-se o sedimento. O sobrenadante foi então centrifugado (5804R, Eppendorf, Hamburgo, Alemanha) a 20.000 G durante 1 hora a 5 °C. Após a extração as amostras foram identificadas e armazenadas em freezer (-20°C). A concentração dos AGCC e AGCR foi determinada por cromatografia gasosa de acordo com Erwin et al. (1961), sendo a coluna de vidro de 30 metros de comprimento, diâmetro interno de 0,32mm, empacotada com coluna HP-INNOWAX (Filme: 0,5µm). O cromatógrafo (Shimadzu,

GC-2014, Shimadzu Scientific Instruments, Tóquio, Japão) foi calibrado por meio da injeção de 1  $\mu$ L de solução padrão mista e a curva pré-estabelecida em software (GC Solution versão 2.41.00 SU1, Shimadzu Scientific Instruments, Tóquio, Japão). Foi utilizado nitrogênio como gás de arraste (vazão de 50 mL/min.), ar sintético como gás comburentes (vazão de 175 mL/min.) e hidrogênio como gás combustível (vazão de 15 mL/min.), com temperaturas de operação de 200°C no injetor, 240°C na coluna e 250°C no detector de ionização de chama.

Para a determinação de ácido láctico foram utilizados cerca de três gramas de fezes frescas, rapidamente homogeneizadas e misturadas à nove mililitros de água destilada (w/v). Esta mistura foi mantida sob refrigeração por um dia, sendo, então, centrifugada por três vezes a 4.500G à 15°C, por 15 minutos. Foi aproveitado o sobrenadante e desprezado o sedimento. O ácido láctico foi analisado de acordo com Pryce (1969) pelo método espectrofotométrico com leitura a 565nm (500 a 570nm). Foi utilizado branco reagente para calibrar o espectrofotômetro (QUICK-Lab, DRAKE, São José do Rio Preto, Brasil). As amostras foram quantificadas comparando-as com padrão de ácido láctico a 0,08%.

Para medir a concentração de amônia das fezes foi adaptada a metodologia de Vieira (1980). Foram utilizados os extratos preparados para dosagem de AGCC, que foram descongelados à temperatura ambiente e em seguida foram compostas alíquotas de dois mililitros, diluídas em 13 mililitros de água destilada (2:13 v/v) e submetidas à destilação em destilador de nitrogênio (Tecnal TE - 036/1, Tecnal, Piracicaba, Brasil). A destilação foi realizada com cinco mililitros de solução 0,2N de hidróxido de potássio e o nitrogênio recebido em erlenmeyer com 10 mililitros de solução receptora (ácido bórico a 0,97N). Ao atingir-se 50 mililitros de solução

receptora mais material destilado foi interrompida a destilação. Em seguida foi realizada a titulação com ácido clorídrico 0,005N.

### ***Avaliação da resposta pós-prandial de glicose e insulina***

Durante os dias 38 a 41 os cães foram adaptados a consumir a quantidade total de alimento em no máximo 15 minutos, em uma única refeição diária. Na sequência, foram submetidos à determinação das respostas pós-prandiais de glicose e insulina de acordo com Carciofi et al. (2008), com modificações nos tempos de coleta de sangue: 0 (zero, antes da refeição), 15, 30, 60, 120, 180, 240, 300, 420, 540 e 720 minutos. Para isto, no dia de coleta de sangue, após tricotomia e antissepsia local, foi canulada a veia cefálica com cateter intravenoso (Angiocath 20GA x 1.16in., Bektón Dickinson, USA). Após 30 minutos de descanso, foi coletada amostra de sangue para determinação da glicemia basal, denominada tempo zero. A dieta experimental foi pesada e oferecida por 15 minutos, registrando-se o consumo. Os cães receberam alimento suficiente para ingerirem  $130\text{kcal/kg}^{0,75}$ . Cães que não consumiram ao menos 90% da quantidade estipulada no período máximo de 15 minutos não foram avaliados, sendo o teste repetido no dia seguinte. Finalizado o consumo do alimento, era iniciada a contagem dos tempos de coleta. Todas as curvas pós-prandiais tiveram início às 09:00hs.

Em cada tempo pré-estabelecido foi coletado 3mL de sangue, que foi dividido em dois recipientes. Para análise de glicose foi depositado 1mL de sangue em recipiente contendo 0,05mL de anticoagulante fluoreto de sódio (Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, Brasil), centrifugado a 1.300G por 5 min e o plasma separado em

dois tubos de polipropileno. Para dosagem de insulina 2mL foram depositados em recipiente sem anticoagulante, centrifugado a 1.300G por 15min e o soro separado. Imediatamente após a coleta, o cateter era lavado com solução de salina para se manter patência. As amostras para análise de glicose e insulina foram congeladas a  $-80^{\circ}\text{C}$  para análise posterior, sem prejuízo dos valores posteriormente analisados de acordo com Reynolds et al. (2006).

As concentrações plasmáticas de glicose foram determinadas por testes de glicose oxidase (GOD-ANA, Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, Brasil), usando analisador semi-automático de glicose (Labquest model BIO-2000, Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, Brasil). As análises foram realizadas em duplicatas, sendo repetidas quando variaram mais de 5%. Para a determinação da concentração sérica de insulina foi utilizado kit Quantikine ELISA (Human/Canine/Porcine Insulin Immunoassay, R&D Systems, Minneapolis, EUA), seguindo-se as recomendações do fabricante. A leitura foi realizada em leitor de microplacas (Biochrom Asys Expert Plus, Biochrom, Cambourne, Cambridge, Reino Unido) usando filtro de 450nm.

As mudanças nas concentrações plasmáticas de glicose e insulina foram calculadas para cada período pós-prandial. As respostas foram comparadas quanto às concentrações basais, média e máxima, aumentos médio e máximo do incremento (a diferença entre a concentração absoluta da amostra e a concentração basal do metabólito), e o tempo para o pico. As áreas abaixo da curva (AAC) das respostas pós-prandiais de glicose e insulina foram calculadas por integrações numéricas pelo método trapezoidal, usando-se o software GraphPad Prism 6.07 (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA).

### **Análise estatística**

Para a análise estatística, a hipótese de normalidade de erros foi avaliada pelo teste de Cramer-von Mises e a homocedasticidade de variâncias pelo teste de Levene. Os dados foram analisados em delineamento em blocos casualizados no tempo (*Cross over*), com os tratamentos em esquema fatorial com dois níveis de idade entre os animais e dois níveis de ração dentro dos animais, com 8 animais em cada combinação destes níveis. Para a obtenção destes resultados utilizou-se o procedimento GLM do *software* SAS (versão 9, SAS Inst. Inc., Cary, NC). No modelo, a soma dos quadrados foi separada nos efeitos de ração, idade e período, bem como suas interações. Quando foram detectadas interações significativas entre os fatores testados (teor de AR e idade) realizou-se o desdobramento da interação. Análise de variância de medidas repetidas com dois fatores dentro do animal (dieta e tempo) e um fator entre os animais (dieta) foi o método estatístico escolhido para avaliar os efeitos da dieta e do tempo sobre as mudanças pós-prandiais de glicose e insulina. Tratamento e tempo foram considerados no modelo. Quando diferenças foram detectadas no teste F da análise de variância, comparações de médias foram realizadas pelo teste de Tukey. As variáveis escore de condição corporal e escore fecal foram analisadas pela análise de variância não paramétrica de Kruskal-Wallis, quando significativas comparações múltiplas foram realizadas pelo teste de Dunn. Valores de  $P < 0,05$  foram considerados significativos. Para a interação ração\*idade, foram considerados significativos para desdobramento dos efeitos de ração e idade valores de  $P < 0,1$ . Na comparação de médias entre rações ou idades, valores de  $P < 0,05$  foram considerados significativos.

## Resultados

Após a moagem, a distribuição de partículas da matéria prima foi diferente entre as rações (Tabela 2). Partículas maiores que 500 $\mu$ m representaram apenas 4,3% na mistura da ração Baixo AR, enquanto somaram 24,8% na ração Alto AR. Mais de 80% das partículas da ração Baixo AR tiveram DGM inferior a 300 $\mu$ m, enquanto que na ração Alto AR esta fração de partículas representou apenas de 40% do total. O índice de gelatinização do amido revelou extensivo cozimento para a ração Baixo AR (99,9%), com reduzido conteúdo de amido resistente de 0,21%, enquanto na ração Alto AR a gelatinização do amido foi limitada (62,6%), com 1,46% de AR.

O consumo das dietas foi adequado, não ocorrendo episódios de diarreia, vômitos ou recusa das rações durante o ensaio. O peso corporal e o ECC não diferiram entre os tratamentos e nem se alterou ao longo do estudo ( $P>0,05$ ; dados não apresentados). A ingestão de EM para manterem peso corporal constante ao longo dos 42 dias não variou entre rações, cães adultos ingeriram 120,7kcal/kg<sup>0,75</sup>/dia, enquanto cães idosos 115,1kcal/kg<sup>0,75</sup>/dia ( $P0,05$ ). Durante o ensaio de digestibilidade, a ingestão de nutrientes não variou entre idades e rações ( $P>0,05$ ), exceto para o amido resistente que apresentou efeito de ração ( $P<0,001$ ), como apresentado na Tabela 3.

Tabela 3. Ingestão e coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes e da energia em cães adultos e idosos alimentados com uma mesma formulação extrusada para se obter diferentes graus de cozimento e teores de amido resistente

Item	Grupo	Dietas <sup>1</sup>		Média	Valor de P		
		Baixo AR	Alto AR		Ração	Idade	Ração*Idade
Ingestão (g/kg/dia)							
Matéria Seca	Adulto	15,5±0,9	15,7±0,7	15,6±0,6	ns <sup>2</sup>	ns	ns
	Idoso	14,4±0,5	13,8±0,4	14,1±0,3			
	Média	14,9±0,5	14,8±0,5				
Amido resistente	Adulto	0,03±0,002	0,23±0,016	0,13±0,027	<0,001	ns	ns
	Idoso	0,03±0,001	0,20±0,007	0,12±0,023			
	Média	0,03±0,001	0,22±0,009				
Coeficientes de Digestibilidade Aparente (%)							
Matéria seca	Adulto	79,3±0,9	81,2±1,0	80,3±0,7	ns	ns	ns
	Idoso	82,0±0,5	80,8±0,8	81,4±0,5			
	Média	80,6±0,6	81,0±0,6				
Matéria orgânica	Adulto	84,7±0,7	85,9±0,7	85,3±0,5	ns	ns	ns
	Idoso	86,7±0,4	85,6±0,6	86,2±0,4			
	Média	85,7±0,5	85,8±0,5				
Proteína Bruta	Adulto	86,6±0,8 <sup>aA</sup>	86,3±0,7 <sup>aA</sup>	86,4±0,51	0,028	ns	0,077
	Idoso	87,8±0,4 <sup>aA</sup>	85,1±0,6 <sup>aB</sup>	86,4±0,50			
	Média	87,2±0,5	85,7±0,5				
Extrato Etéreo	Adulto	92,6±0,4	92,3±0,4	92,4±0,26	ns	ns	ns
	Idoso	94,1±0,5	92,3±0,8	93,2±0,51			
	Média	93,4±0,4	92,3±0,4				

Amido	Adulto	99,8±0,02	99,8±0,02	99,8±0,01	ns	ns	ns
	Idoso	99,8±0,01	99,8±0,02	99,8±0,01			
	Média	99,8±0,01	99,8±0,01				
Energia Bruta	Adulto	85,6±0,6	86,7±0,7	86,2±0,5	ns	ns	ns
	Idoso	87,6±0,3	86,3±0,6	87,0±0,4			
	Média	86,6±0,4	86,5±0,4				
Energia metabolizável (kcal/g na MS)	Adulto	4,17±0,03	4,24±0,03	4,21±0,02	ns	ns	ns
	Idoso	4,27±0,02	4,22±0,03	4,25±0,02			
	Média	4,22±0,02	4,23±0,02				

<sup>1</sup> Baixo AR – ração finamente moída e extrusada com maior aplicação de energia mecânica específica para se obter elevado cozimento e baixo teor de amido resistente; Alto AR – ração grosseiramente moída e extrusada com menor aplicação de energia mecânica específica para se obter reduzido cozimento e maior teor de amido resistente;

<sup>2</sup> ns – não significativo ( $P > 0,05$ );

<sup>a, b</sup> Médias na coluna sem uma letra minúscula em comum são diferentes ( $P < 0,05$ ). Comparação válida para uma mesma variável;

<sup>A, B</sup> Médias nas linhas sem uma letra maiúscula em comum são diferentes ( $P < 0,05$ )

Houve interação entre ração e idade para o coeficiente digestibilidade aparente da proteína ( $P=0,077$ ); para a cães idosos, a ração Baixo AR apresentou maior digestibilidade protéica que a ração Alto AR ( $P<0,05$ ). No entanto, a digestibilidade da proteína não variou entre idades para a ração Baixo AR ou entre as rações para os cães adultos. A digestibilidade dos demais nutrientes não variou entre rações ou entre idades.

Cães idosos produziram menos fezes na matéria natural e matéria seca, bem como fezes com menos umidade e menor pH que cães adultos ( $P<0,05$ ; Tabela 4). O valor de pH das fezes também variou entre rações, menor nos cães que consumiram a ração Alto AR ( $P<0,05$ ). O escore de fezes não variou em função do grupo etário ou das dietas. Quanto aos produtos de fermentação, acetato e AGCC totais apresentaram maior concentração nas fezes nos cães alimentados com a dieta Alto AR e menor concentração nas fezes dos idosos ( $P<0,05$ ; Tabela 5). Propionato e butirato não diferiram entre idades, mas tiveram maior concentração nas fezes de cães alimentados com a ração Alto AR. Para lactato e amônia houve interação idade\*ração ( $P<0,05$ ). O lactato foi menor nas fezes de cães adultos em comparação aos idosos ( $P<0,05$ ), sua concentração foi semelhante nas fezes dos cães adultos alimentados com a ração Alto AR ou Baixo AR, mas para cães idosos, quando estes receberam a ração Alto AR houve aumento do lactato das fezes ( $P<0,05$ ). Por fim, o teor de amônia foi menor nas fezes dos cães adultos ( $P<0,05$ ), não variando entre rações para esta faixa etária. Para idosos, no entanto, o teor de amônia das fezes foi maior na ração Baixo AR ( $P<0,05$ ).

Tabela 4. Produção e características das fezes de cães adultos e idosos alimentados com uma mesma formulação extrusada para se obter diferentes graus de cozimento e teores de amido resistente

Item	Grupo	Dietas <sup>1</sup>		Média	Valor de P		
		Baixo AR	Alto AR		Ração	Idade	Ração*Idade
Produção de fezes na matéria natural (g/kg/dia)	Adulto	7,3±0,3	7,2±0,6	7,2±0,3	ns <sup>2</sup>	0,006	ns
	Idoso	5,9±0,4	6,2±0,3	6,1±0,2			
	Média	6,6±0,3	6,7±0,3				
Produção de fezes na matéria seca (g/kg/dia)	Adulto	3,4±0,1	3,2±0,3	3,3±0,1	ns	0,003	ns
	Idoso	2,7±0,1	2,8±0,1	2,8±0,1			
	Média	3,1±0,1	3,0±0,1				
Umidade das fezes (%)	Adulto	56,8±0,6	58,5±1,4	57,7±0,8	ns	0,009	ns
	Idoso	53,1±1,2	55,3±1,6	54,2±1,0			
	Média	54,5±0,8	56,9±1,1				
pH das fezes	Adulto	7,36±0,1	6,97±0,1	7,16±0,1	<0,001	0,010	ns
	Idoso	7,17±0,1	6,71±0,1	6,96±0,1			
	Média	7,26±0,1	6,84±0,1				
Escore das fezes <sup>3</sup>	Adulto	3,8±0,1	3,8±0,1	3,8±0,1	ns	ns	ns
	Idoso	3,9±0,1	3,9±0,1	3,9±0,1			
	Média	3,8±0,1	3,9±0,1				

<sup>1</sup> Baixo AR – ração finamente moída e extrusada com maior aplicação de energia mecânica específica para se obter elevado cozimento e baixo teor de amido resistente; Alto AR – ração grosseiramente moída e extrusada com menor aplicação de energia mecânica específica para se obter reduzido cozimento e maior teor de amido resistente;

<sup>2</sup> ns – não significativo (P>0,05).

Tabela 5. Concentração de produtos de fermentação (mMol/kg de fezes na MS) nas fezes de cães adultos e idosos alimentados com uma mesma formulação extrusada para se obter diferentes graus de cozimento e teores de amido resistente

Item	Idade	Dietas <sup>1</sup>		Média	Valor de P		
		Baixo AR	Alto AR		Ração	Idade	Ração*Idade
Ácido acético	Adulto	253,7±14,5	304,1±13,5	278,9±11,6	0,003	0,002	ns
	Idoso	208,6±16,9	249,6±11,6	229,1±11,2			
	Média	231,2±12,2	276,9±11,1				
Ácido propiônico	Adulto	111,6±6,6	147,2±10,5	129,4±7,5	<0,001	ns	ns
	Idoso	92,7±9,4	154,3±8,5	123,5±10,1			
	Média	102,2±6,1	150,7±6,6				
Ácido butírico	Adulto	44,3±2,3	68,8±6,2	56,6±4,5	<0,001	ns	ns
	Idoso	40,4±2,8	60,0±4,3	50,2±3,5			
	Média	42,3±1,8	64,4±3,8				
AGCC total	Adulto	409,6±21,6	520,1±23,3	464,8±21,0	<0,001	0,015	ns
	Idoso	341,8±27,5	463,9±22,9	402,8±23,4			
	Média	375,7±19,0	492,0±17,4				
Ácido isobutírico	Adulto	7,9±0,3	7,5±0,6	7,7±0,3	ns	ns	ns
	Idoso	8,3±0,6	7,4±0,5	7,8±0,4			
	Média	8,1±0,3	7,41±0,4				
Ácido isovalérico	Adulto	11,8±0,5	11,5±0,9	11,7±0,5	ns	ns	ns
	Idoso	12,6±0,9	11,4±0,7	12,0±0,6			
	Média	12,2±0,5	11,5±0,5				

Ácido valérico	Adulto	0,96±0,1	2,13±0,5	1,54±0,3	ns	ns	ns
	Idoso	1,01±0,3	1,55±0,3	1,28±0,2			
	Média	0,99±0,2	1,84±0,3				
AGCR total	Adulto	20,7±0,8	21,1±1,8	20,9±0,9	ns	ns	ns
	Idoso	22,0±1,5	20,3±1,3	21,1±1,0			
	Média	21,3±0,8	20,7±1,1				
AGV totais	Adulto	430,2±21,5	541,2±23,6	485,7±21,1	<0,001	0,017	ns
	Idoso	363,7±28,2	484,2±23,7	423,9±23,7			
	Média	397,0±19,2	512,7±17,8				
Lactato	Adulto	5,4±0,1 <sup>bA</sup>	5,8±0,3 <sup>bA</sup>	5,6±0,2	0,004	<0,001	0,004
	Idoso	8,3±0,3 <sup>aB</sup>	10,8±0,3 <sup>aA</sup>	9,3±0,4			
	Média	6,88±0,4	7,9±0,7				
Amônia	Adulto	141,9±5,9 <sup>bA</sup>	153,6±3,8 <sup>bA</sup>	147,7±3,7	ns	<0,001	0,030
	Idoso	253,9±15,9 <sup>aA</sup>	219,2±10,6 <sup>aB</sup>	236,6±10,2			
	Média	197,9±16,6	186,4±10,1				

<sup>1</sup> Baixo AR – ração finamente moída e extrusada com maior aplicação de energia mecânica específica para se obter elevado cozimento e baixo teor de amido resistente; Alto AR – ração grosseiramente moída e extrusada com menor aplicação de energia mecânica específica para se obter reduzido cozimento e maior teor de amido resistente;

<sup>2</sup> ns – não significativo (P>0,05)

<sup>a, b</sup> Médias na coluna sem uma letra minúscula em comum são diferentes (P<0,05). Comparação válida para uma mesma variável;

<sup>A, B</sup> Médias nas linhas sem uma letra maiúscula em comum são diferentes (P<0,05)

Houve interação entre idade e ração para glicemia mínima e média (Tabela 6); cães idosos apresentaram menor glicemia mínima e média após consumo da ração Alto AR, enquanto para cães adultos não houve diferença entre rações e para a ração Baixo AR não houve diferença entre idades. Em relação à insulina, foi verificada grande variabilidade entre animais, de modo que mesmo frente a diferenças numéricas expressivas não se detectou diferenças entre idades ou rações (Tabela 7). Quanto a AAC de glicose, houve interação entre idade e ração para as AAC iniciais (AAC 0-120' e AAC 0-240'), AAC tardia (AAC 420-740') e total (AAC 0-720'), como apresentado na Tabela 8 ( $P < 0,10$ ). Cães idosos apresentaram menores AAC de glicose após consumo da ração Alto AR, enquanto para cães adultos não houve diferença entre rações e para a ração Baixo AR não houve diferença entre idades. A AAI de glicose nos períodos 0-240' e 120-240' foram menores no grupo adulto (Tabela 9).

Foi verificado maior secreção tardia de insulina (AAC 240-720) para o grupo idoso ( $P < 0,05$ ) em relação aos adultos, tanto quanto esta foi avaliado em relação à concentração absoluta (Tabela 10) como quanto ao incremento do hormônio (Tabela 11). A AAI da secreção inicial de insulina (AAI 0-240) tendeu a ser maior para os idosos em relação aos adultos ( $P = 0,099$ ), enquanto a AAI total (AAI 0-720) foi maior para idosos ( $P = 0,034$ ) e a AAI da secreção tardia de insulina (AAI 240-720) tendeu a ser maior para cães alimentados com a ração Baixo AR ( $P = 0,065$ ), independente de idade e a ser maior para idosos ( $P = 0,057$ ), independente de ração.

Tabela 6. Glicemias mínimas, médias e máximas e tempo para o pico máximo de glicose de cães adultos e idosos alimentados com uma mesma formulação extrusada para se obter diferentes graus de cozimento e teores de amido resistente

Item	Grupo	Dietas <sup>1</sup>		Média	Valor de P		
		Baixo AR	Alto AR		Ração	Idade	Ração*Idade
Mínima (mg/dL)	Adulto	71,5±2,0 <sup>aa</sup>	72,3±1,6 <sup>aa</sup>	71,9±1,3	ns <sup>2</sup>	0,006	0,064
	Idoso	69,7±1,9 <sup>aa</sup>	64,8±1,3 <sup>bb</sup>	67,6±1,3			
	Média	70,6±1,4	69,0±1,4				
Média (mg/dL)	Adulto	79,6±1,8 <sup>aa</sup>	79,8±1,4 <sup>aa</sup>	79,7±1,1	0,054	0,004	0,034
	Idoso	78,3±2,2 <sup>aa</sup>	72,9±1,1 <sup>bb</sup>	76,0±1,5			
	Média	78,9±1,4	76,9±1,3				
Máxima (mg/dL)	Adulto	88,2±2,1 <sup>aa</sup>	88,1±1,5 <sup>aa</sup>	88,1±1,3	0,094	ns	0,097
	Idoso	89,1±3,0 <sup>aa</sup>	83,9±1,0 <sup>bb</sup>	86,9±1,8			
	Média	88,6±1,8	86,3±1,1				
Tempo para o pico (minutos)	Adulto	315,0±101,1	307,5±60,5	311,3±56,9	ns	0,048	ns
	Idoso	153,8±29,7	172,5±42,3	161,8±25,8			
	Média	234,4±55,0	249,6±43,1				
Incremento médio (mg/dL)	Adulto	2,6±0,9	5,1±1,1	3,8±0,8	ns	ns	ns
	Idoso	4,9±1,4	4,9±1,1	4,9±0,9			
	Média	3,7±0,9	5,0±0,8				
Incremento máximo (mg/dL)	Adulto	12,4±1,7	13,5±1,5	12,9±1,1	ns	ns	ns
	Idoso	16,0±2,9	16,0±1,3	16,0±1,7			
	Média	14,2±1,7	14,5±1,1				

<sup>1</sup> Baixo AR – ração finamente moída e extrusada com maior aplicação de energia mecânica específica para se obter elevado cozimento e baixo teor de amido resistente; Alto AR – ração grosseiramente moída e extrusada com menor aplicação de energia mecânica específica para se obter reduzido cozimento e maior teor de amido resistente;

<sup>2</sup> ns – não significativo (P>0,05)

<sup>a, b</sup> Médias na coluna sem uma letra minúscula em comum são diferentes (P<0,05).  
Comparação válida para uma mesma variável;

<sup>A, B</sup> Médias nas linhas sem uma letra maiúscula em comum são diferentes (P<0,05)

Tabela 7. Insulinemias mínimas, médias e máximas e tempo para o pico máximo de insulina de cães adultos e idosos alimentados com uma mesma formulação extrusada para se obter diferentes graus de cozimento e teores de amido resistente

Item	Grupo	Dietas <sup>1</sup>		Média	Valor de P		
		Baixo AR	Alto AR		Ração	Idade	Ração*Idade
Mínima (pmol/L)	Adulto	18,1±7,4	22,7±4,5	20,4±4,2	ns <sup>2</sup>	ns	ns
	Idoso	17,5±3,4	34,0±12,4	25,1±6,0			
	Média	17,8±3,9	27,9±6,0				
Média (pmol/L)	Adulto	171,6±37,5	139,4±15,3	155,5±19,0	ns	ns	ns
	Idoso	187,1±25,1	187,4±30,0	187,2±18,4			
	Média	178,8±21,4	160,0±16,2				
Máxima (pmol/L)	Adulto	390,2±61,7	293,3±38,8	341,8±37,4	ns	ns	ns
	Idoso	408,8±62,0	368,4±33,9	390,2±36,5			
	Média	398,9±42,2	325,5±27,5				
Tempo para o pico (minutos)	Adulto	300,0±43,9	382,5±73,4	341,3±42,7	ns	ns	ns
	Idoso	278,6±46,9	270,0±43,1	274,6±31,0			
	Média	290,0±31,0	334,3±46,9				
Incremento médio (pmol/L)	Adulto	192,0±33,7	113,6±16,9	138,0±18,0	ns	ns	ns
	Idoso	186,2±27,6	159,3±19,2	173,8±17,2			
	Média	189,3±21,2	133,2±13,7				
Incremento máximo (pmol/L)	Adulto	363,5±60,4	244,2±31,5	303,9±36,3	0,100	ns	ns
	Idoso	390,7±61,5	350,5±27,2	372,1±35,3			
	Média	376,2±41,7	289,7±25,3				

<sup>1</sup> Baixo AR – ração finamente moída e extrusada com maior aplicação de energia mecânica específica para se obter elevado cozimento e baixo teor de amido resistente; Alto AR – ração grosseiramente moída e extrusada com menor aplicação de energia mecânica específica para se obter reduzido cozimento e maior teor de amido resistente;

<sup>2</sup> ns – não significativo (P>0,05)

Tabela 8. Áreas abaixo da curva (AAC) de glicose (mg/dL/h) de cães adultos e idosos alimentados com uma mesma formulação extrusada para se obter diferentes graus de cozimento e teores de amido resistente

Item	Grupo	Dietas <sup>1</sup>		Média	Valor de P		
		Baixo AR	Alto AR		Ração	Idade	Ração*Idade
AAC 0-120'	Adulto	158,3±3,6 <sup>aA</sup>	162,0±2,7 <sup>aA</sup>	160,2±2,2	ns <sup>2</sup>	0,001	0,028
	Idoso	152,6±5,3 <sup>aA</sup>	141,3±3,2 <sup>bB</sup>	147,8±3,6			
	Média	155,5±3,2	153,1±3,5				
AAC 120-240'	Adulto	158,3±4,7 <sup>aA</sup>	159,6±4,6 <sup>aA</sup>	159,0±3,2	0,020	ns	0,010
	Idoso	164,1±6,3 <sup>aA</sup>	145,8±4,5 <sup>bB</sup>	156,3±4,7			
	Média	161,2±3,9	153,7±3,7				
AAC 240-720'	Adulto	646,4±13,5 <sup>aA</sup>	648,2±9,7 <sup>aA</sup>	647,3±8,0	0,103	0,008	0,072
	Idoso	634,9±16,6 <sup>aA</sup>	598,2±12,4 <sup>bB</sup>	619,2±11,6			
	Média	640,6±10,4	626,8±10,1				
AAC 0-720'	Adulto	963,1±20,8 <sup>aA</sup>	969,7±16,3 <sup>aA</sup>	966,4±13,7	0,053	0,004	0,022
	Idoso	951,5±29,7 <sup>aA</sup>	885,4±16,4 <sup>bB</sup>	923,2±19,6			
	Média	957,3±17,2	933,6±16,1				

<sup>1</sup> Baixo AR – ração finamente moída e extrusada com maior aplicação de energia mecânica específica para se obter elevado cozimento e baixo teor de amido resistente; Alto AR – ração grosseiramente moída e extrusada com menor aplicação de energia mecânica específica para se obter reduzido cozimento e maior teor de amido resistente;

<sup>2</sup> ns – não significativo (P>0,05)

<sup>a, b</sup> Médias na coluna sem uma letra minúscula em comum são diferentes (P<0,05). Comparação válida para uma mesma variável;

<sup>A, B</sup> Médias nas linhas sem uma letra maiúscula em comum são diferentes (P<0,05)

Tabela 9. Áreas abaixo da curva do incremento (AAI) de glicose (mg/dL/h) de cães adultos e idosos alimentados com uma mesma formulação extrusada para se obter diferentes graus de cozimento e teores de amido resistente

Item	Grupo	Dietas <sup>1</sup>		Média	Valor de P		
		Baixo AR	Alto AR		Ração	Idade	Ração*Idade
AAC 0-120'	Adulto	2,5±1,7 <sup>aB</sup>	12,1±2,6 <sup>aA</sup>	7,3±1,9	ns <sup>2</sup>	ns	0,010
	Idoso	6,6±3,6 <sup>aA</sup>	2,1±3,1 <sup>bB</sup>	4,7±2,4			
	Média	4,6±2,0	7,8±2,4				
AAC 120-240'	Adulto	-5,8±1,6 <sup>bA</sup>	-6,9±2,1 <sup>bA</sup>	-2,1±2,6	0,007	0,001	0,038
	Idoso	9,4±4,6 <sup>aA</sup>	11,6±3,4 <sup>aA</sup>	4,6±3,3			
	Média	-6,3±1,3	10,4±2,9				
AAC 240-720'	Adulto	-12,4±13,5	17,6±12,6	2,6±9,7	ns	ns	ns
	Idoso	-3,9±10,7	5,6±9,6	0,2±7,2			
	Média	-8,2±8,4	12,4±8,2				
AAC 0-720'	Adulto	28,5±9,2 <sup>bB</sup>	70,2±14,7 <sup>aA</sup>	49,4±10,0	ns	ns	0,022
	Idoso	75,5±21,9 <sup>aA</sup>	50,2±16,0 <sup>aA</sup>	64,6±14,2			
	Média	52,0±13,0	61,6±10,8				

<sup>1</sup> Baixo AR – ração finamente moída e extrusada com maior aplicação de energia mecânica específica para se obter elevado cozimento e baixo teor de amido resistente; Alto AR – ração grosseiramente moída e extrusada com menor aplicação de energia mecânica específica para se obter reduzido cozimento e maior teor de amido resistente;

<sup>2</sup> ns – não significativo (P>0,05);

<sup>a, b</sup> Médias na coluna sem uma letra minúscula em comum são diferentes (P<0,05). Comparação válida para uma mesma variável;

<sup>A, B</sup> Médias nas linhas sem uma letra maiúscula em comum são diferentes (P<0,05)

Tabela 10. Áreas abaixo da curva (AAC) de insulina (pmol/L/h) de cães adultos e idosos alimentados com uma mesma formulação extrusada para se obter diferentes graus de cozimento e teores de amido resistente

Item	Grupo	Dietas <sup>1</sup>		Média	Valor de P		
		Baixo AR	Alto AR		Ração	Idade	Ração*Idade
AAC 0-120'	Adulto	312,2±82,2	252,0±45,7	282,0±46,1	ns	ns	ns
	Idoso	294,8±35,9	337,7±62,5	314,6±33,2			
	Média	304,0±44,4	288,7±37,7				
AAC 120-240'	Adulto	456,2±82,6	368,6±63,5	412,4±51,6	ns	ns	ns
	Idoso	542,4±65,3	504,3±90,0	524,8±51,9			
	Média	496,4±52,4	426,7±54,1				
AAC 240-720'	Adulto	1.492,9±243,0	1.329,6±172,3	1.411,2±145,4	ns	ns	ns
	Idoso	1.900,5±254,2	1.745,8±262,6	1.829,1±176,7			
	Média	1.683,1±177,1	1.508,0±154,2				
AAC 0-720'	Adulto	2.261,0±393,7	2.038,1±275,5	2.149,5±233,9	ns	0,036	ns
	Idoso	3.104,9±241,6	2.587,7±389,2	2.866,2±221,1			
	Média	2.654,8±251,2	2.273,6±232,4				

<sup>1</sup> Baixo AR – ração finamente moída e extrusada com maior aplicação de energia mecânica específica para se obter elevado cozimento e baixo teor de amido resistente; Alto AR – ração grosseiramente moída e extrusada com menor aplicação de energia mecânica específica para se obter reduzido cozimento e maior teor de amido resistente;

<sup>2</sup> ns – não significativo (P>0,05)

Tabela 11. Áreas abaixo da curva do incremento (AAI) de insulina (pmol/L/h) de cães adultos e idosos alimentados com uma mesma formulação extrusada para se obter diferentes graus de cozimento e teores de amido resistente

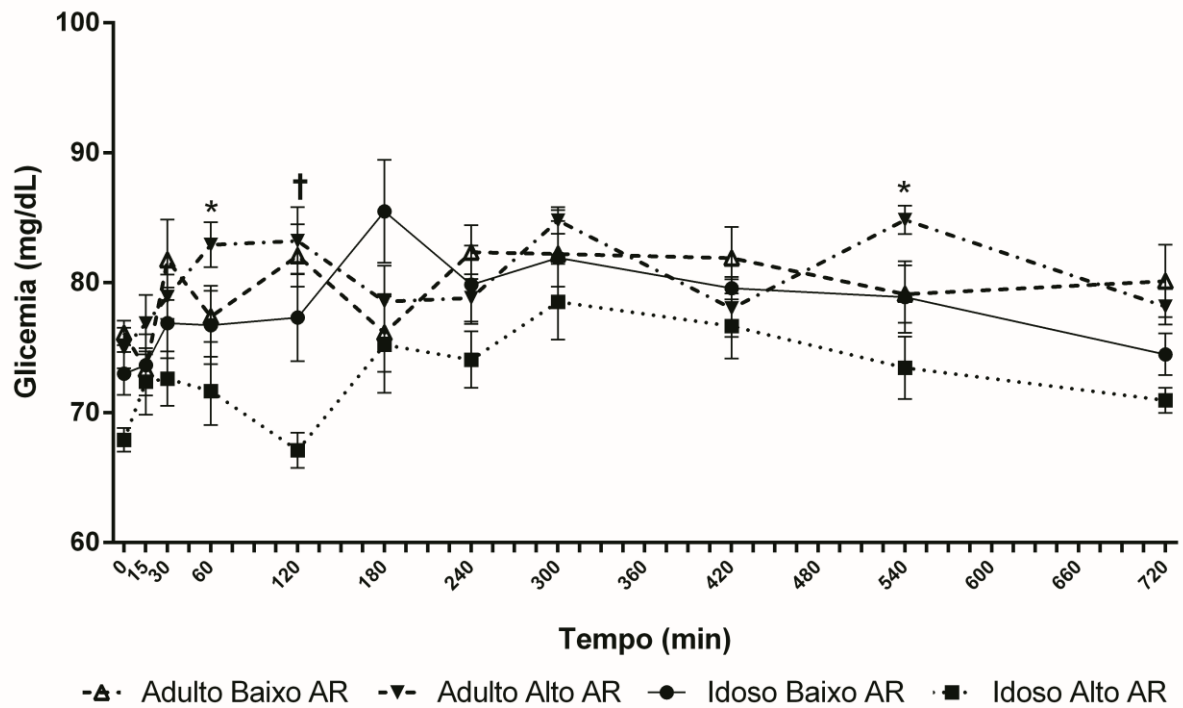
Item	Grupo	Dietas <sup>1</sup>		Média	Valor de P		
		Baixo AR	Alto AR		Ração	Idade	Ração*Idade
AAC 0-120'	Adulto	265,9±72,4	194,0±49,6	230,0±43,4	ns <sup>2</sup>	ns	ns
	Idoso	270,1±35,8	259,8±43,9	265,3±26,7			
	Média	267,9±39,8	222,2±34,0				
AAC 120-240'	Adulto	410,2±74,2	291,4±50,6	350,8±46,0	ns	0,047	ns
	Idoso	440,8±91,3	412,4±80,9	427,7±59,7			
	Média	424,4±56,4	343,2±46,3				
AAC 240-720'	Adulto	1.308,5±207,3	994,0±124,8	1.151,2±123,7	ns	0,043	ns
	Idoso	1.755,1±248,1	1.417,7±180,9	1.599,4±160,1			
	Média	1.516,9±165,1	1.175,6±116,5				
AAC 0-720'	Adulto	1.984,7±337,5	1.479,2±198,3	1.731,9±200,0	ns	0,076	ns
	Idoso	2.454,0±348,1	2.090,0±256,9	2.286,0±221,3			
	Média	2.203,7±241,1	1.741,0±173,2				

<sup>1</sup> Baixo AR – ração finamente moída e extrusada com maior aplicação de energia mecânica específica para se obter elevado cozimento e baixo teor de amido resistente; Alto AR – ração grosseiramente moída e extrusada com menor aplicação de energia mecânica específica para se obter reduzido cozimento e maior teor de amido resistente;

<sup>2</sup> ns – não significativo (P>0,05)

<sup>a, b</sup> Médias na coluna sem uma letra minúscula em comum são diferentes (P<0,05). Comparação válida para uma mesma variável;

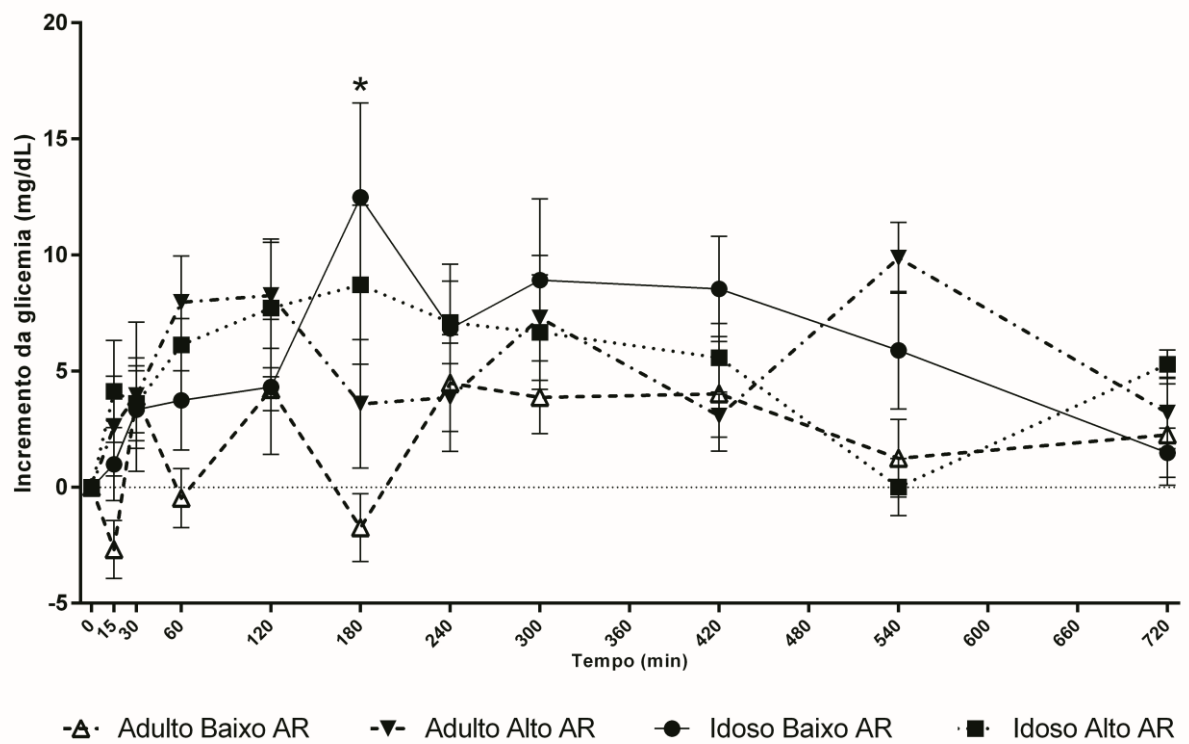
<sup>A, B</sup> Médias nas linhas sem uma letra maiúscula em comum são diferentes (P<0,05)



**Figura 1.** Respostas pós-prandiais de glicose de acordo com o tempo de coleta de cães alimentados com dietas experimentais processadas para se obter diferentes graus de cozimento e teores de amido resistente.

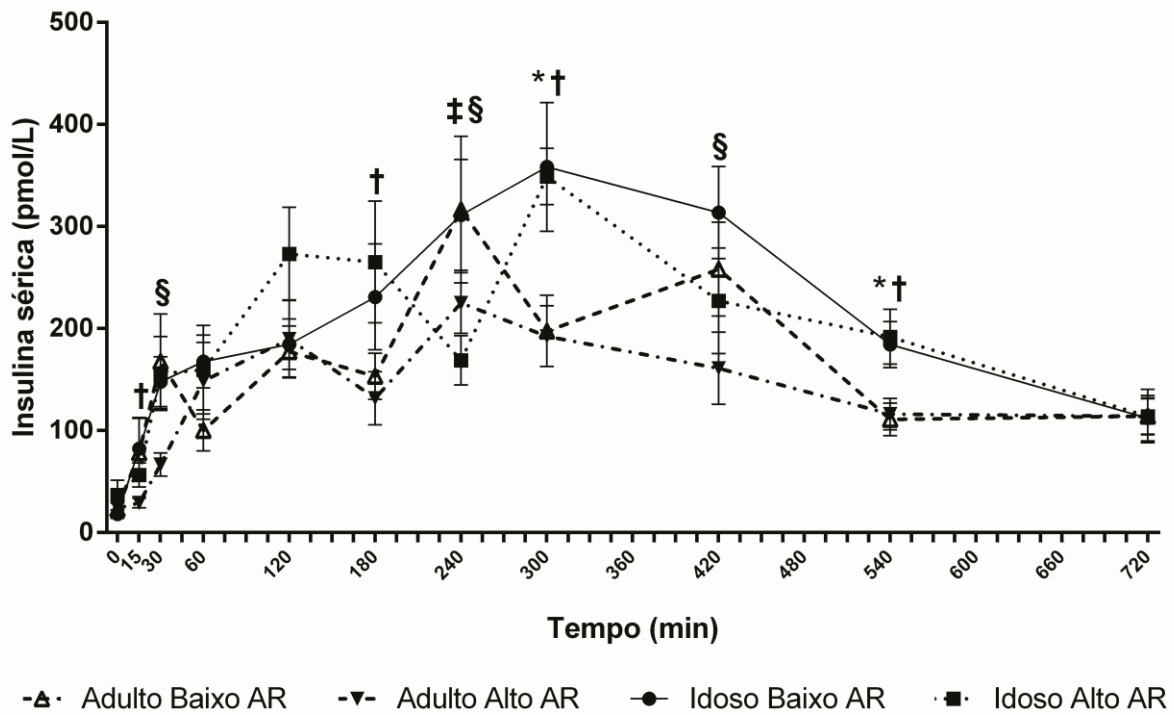
\* Diferença entre grupos Adulto Alto AR e Idoso Alto AR ( $P < 0,05$ )

† Diferença entre grupos Adulto Alto AR e Idoso Alto AR ( $P < 0,001$ )



**Figura 2.** Incrementos de glicose de acordo com o tempo de coleta de cães alimentados com dietas experimentais processadas para se obter diferentes graus de cozimento e teores de amido resistente.

\* Diferença entre grupos Adulto Baixo AR e Idoso Baixo AR ( $P < 0,001$ )



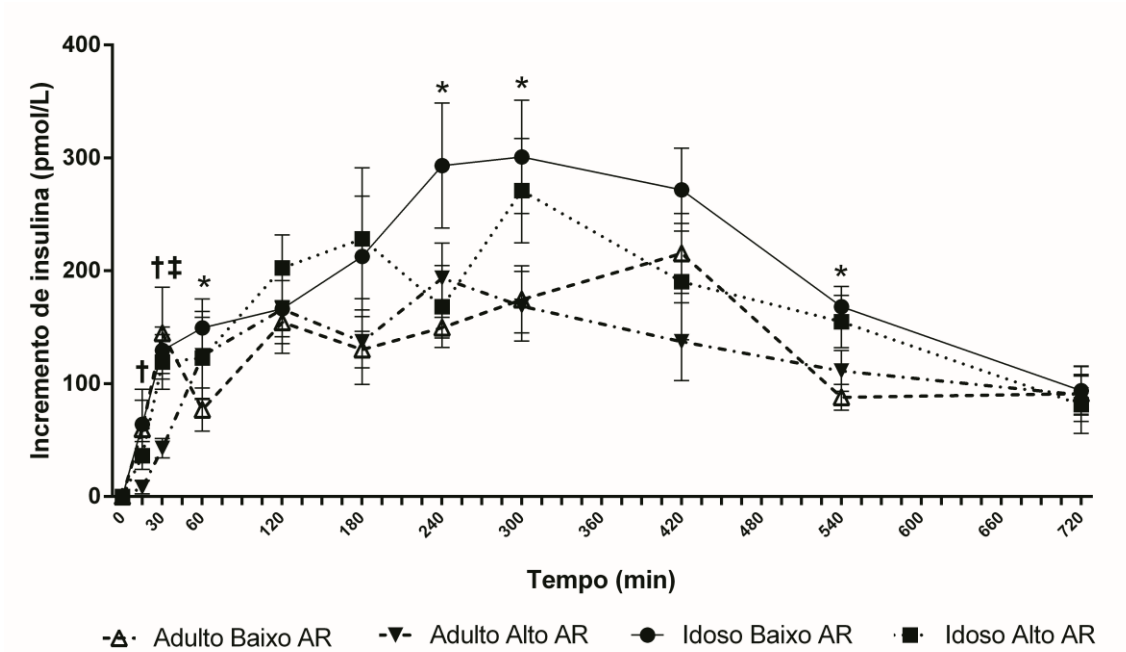
**Figura 3.** Respostas pós-prandiais de insulina de acordo com o tempo de coleta de cães alimentados com dietas experimentais processadas para se obter diferentes graus de cozimento e teores de amido resistente.

\* Diferença entre grupos Adulto Baixo AR e Idoso Baixo AR ( $P < 0,05$ )

† Diferença entre grupos Adulto Alto AR e Idoso Alto AR ( $P < 0,05$ )

‡ Diferença entre grupos Idoso Baixo AR e Idoso Alto AR ( $P < 0,05$ )

§ Diferença entre grupos Adulto Baixo AR e Adulto Alto AR ( $P < 0,05$ )



**Figura 4.** Incrementos de insulina de acordo com o tempo de coleta de cães alimentados com dietas experimentais processadas para se obter diferentes graus de cozimento e teores de amido resistente.

\* Diferença entre grupos Adulto Baixo AR e Idoso Baixo AR ( $P < 0,05$ )

† Diferença entre grupos Adulto Alto AR e Idoso Alto AR ( $P < 0,05$ )

‡ Diferença entre grupos Adulto Baixo AR e Adulto Alto AR ( $P < 0,05$ )

## Discussão

A maioria dos alimentos comerciais para cães e gatos é produzida pelo processo de extrusão em que as empresas buscam, de uma maneira geral, uniformidade dos extrusados através de moagem fina, o que impede a identificação dos ingredientes utilizados pelos proprietários. Durante a produção destes alimentos, as etapas de moagem e extrusão são responsáveis por alterar tanto características externas dos *kibbles* como a utilização dos nutrientes nos organismos dos cães e gatos. Com o desenvolvimento e expansão do mercado de alimentos comerciais, o conceito de alimento de qualidade migrou de apenas possuir alta digestibilidade e produzir pequeno volume de fezes para a obtenção de mais benefícios para a saúde e atendimento das diferentes exigências dos animais (Carciofi e Jeremias, 2010).

A moagem, apesar de exigir elevado consumo de energia, promove redução da granulometria, e possui relação direta com a eficiência do processo de extrusão (Fraiha et al., 2005; Sá, 2015). O tamanho das partículas, avaliado pelo DGM, influencia o percentual de gelatinização e a digestibilidade dos nutrientes nos cães (Bazolli et al., 2015), sendo que o alto processamento destes alimentos contribui para que os mesmos tenham altos índices de digestibilidade e levem à produção de menor volume de fezes. Estas características inicialmente desejáveis pelos proprietários podem ser inadequadas, por exemplo, durante períodos da vida dos animais em que o metabolismo está alterado.

Conforme observado em estudos anteriores (Roberti-Filho, 2013; Bazolli et al., 2015), uma moagem menos intensa, que eleva o DGM, reduz o cozimento da

ração, identificado pelo índice de gelatinização do amido. O teor de amido resistente na ração possui correlação inversa com o índice de gelatinização, o que corrobora os achados do presente estudo, em que a dieta Alto AR (1,46% AR) teve 62,6% de gelatinização do amido e a dieta Baixo AR (0,21% AR) teve 99,9% de gelatinização.

O consumo de amido resistente foi maior nos tratamentos que consumiram dieta Alto AR. Os demais nutrientes não apresentaram diferença de consumo entre os tratamentos, o que era esperado já que a composição dos macronutrientes das dietas era a mesma.

Os cães idosos apresentaram tendência ( $P=0,077$ ) de menor digestibilidade da proteína bruta ao consumirem a dieta Alto AR, sugerindo uma fermentação diferenciada neste grupo etário. Em função da sarcopenia que ocorre com o envelhecimento (Freeman, 2012) e se esta menor digestibilidade poderia contribuir para este processo, uma melhor interpretação destes resultados seria possível através da digestibilidade ileal, o que não foi realizado neste estudo. A digestibilidade aparente da proteína bruta foi menor na dieta alto AR ( $P=0,028$ ), o que pode ser justificado pela maior fermentação e aumento da proteína produzida pela microbiota. Roberti-Filho (2013) observou redução linear da digestibilidade dos nutrientes, exceto para amido e gordura, com o aumento do DGM. Beloshapka et al. (2014) avaliaram o consumo de AR em níveis crescentes para cães e observaram redução da digestibilidade da gordura com o aumento do nível de AR na dieta. Os resultados do presente estudo acompanham o observado em outros trabalhos, em que não houve diferença na digestibilidade aparente entre cães adultos e idosos (Taylor et al., 1995; Swanson et al., 2004; Fahey et al., 2008; Gomes et al., 2011) e

diferem dos encontrados por Maria (2013) em que foi observado diferença de idade entre os animais que consumiram dieta com polpa de beterraba, uma fonte de fibra solúvel e fermentável. Maiores teores de amido resistente poderiam ter efeito similar ao de fontes de fibra fermentável na digestibilidade aparente de nutrientes devido à fermentação no intestino grosso pela microbiota. Esta redução na digestibilidade e densidade energética das dietas seria um dos benefícios da utilização de dietas com maior DGM e consequente maior teor de AR. Normalmente as dietas comerciais lançam mão da utilização de fibras para este intuito, entretanto estes ingredientes precisam ser adicionados à formulação ou utilizados em maiores níveis, aumentando os custos de produção. Já a produção de dietas com maiores DGM e AR requer menores custos de energia durante o processamento, além de ser desnecessária a inclusão de novos ingredientes, tornando-se uma alternativa mais econômica que justifica maiores estudos.

A umidade das fezes, assim como sua produção na matéria seca e na matéria natural, foi maior no grupo de cães adultos. Porém, a maior umidade não foi suficiente para alterar o escore fecal, mantendo-o adequado em todos os tratamentos e evitando uma característica indesejável de fezes úmidas e pastosas que dificultariam a retirada das mesmas. A maior produção fecal poderia ser explicada pelo consumo numericamente superior de matéria seca pelos adultos. Estudos anteriores não haviam encontrado diferença nestes parâmetros entre cães de diferentes idades (Swanson et al., 2004; Gomes, 2013). O consumo da ração Alto AR reduziu o pH das fezes, o que se justifica pelo maior fornecimento de substrato para fermentação bacteriana no intestino grosso, evidenciando o efeito prebiótico do AR. Bazolli et al (2015) também observaram menor pH das fezes com o aumento do

DGM quando milho foi utilizado como fonte de carboidrato na dieta, o que não ocorreu com dietas a base de arroz e sorgo. O menor pH das fezes nos idosos difere de trabalhos que haviam encontrado valores iguais (Maria, 2013) ou maiores (Gomes et al., 2011) para este grupo etário. Uma justificativa para isto seria que os cães idosos podem ter fermentação diferenciada pela microbiota intestinal.

Houve interação entre dieta e idade quando os cães idosos consumiram a dieta Alto AR, aumentando as concentrações de lactato e diminuindo as de amônia nas fezes. O aumento de lactato corrobora com o menor pH das fezes dos idosos, associação previamente identificada (Roberti-Filho, 2013). Apesar de não ocorrer em estudos anteriores (Gomes et al., 2011; Gomes, 2013), maior concentração de lactato nos cães idosos já havia sido observada por Maria (2013) quando foi avaliado o consumo de dieta com polpa de beterraba. A redução da amônia fecal no grupo idoso com o consumo da dieta Alto AR resulta em efeito benéfico, pois é considerada importante marcador de melhora do microambiente intestinal devido à sua toxicidade para os colonócitos. Portanto, o fornecimento de substrato para fermentação pela microbiota direciona a amônia produzida para a síntese de proteína bacteriana (Kuzmuk et al., 2005). Roberti-Filho (2013) também observou maior concentração lactato e redução da amônia com o consumo de rações com maior DGM e concentração de AR. Beloshapka et al. (2014) não encontraram efeito do consumo crescente de AR sobre a concentração de amônia em cães adultos.

O consumo da ração Alto AR levou a maiores concentrações de ácidos acético, propiônico e butírico e, conseqüentemente, maior concentração de AGCC e AGV totais, evidenciando a capacidade de fermentação e utilização de AR como

prebiótico. Apesar de pouco estudado em cães (Spears e Fahey, 2004), AR é considerado prebiótico importante para humanos (Topping e Clifton, 2001). Beloshapka et al. (2014) não encontraram diferenças para os AGCC e AGCR após o consumo de AR na forma de biscoito por cães adultos. Os cães adultos produziram fezes com maiores concentrações de ácido acético ( $P=0,002$ ), AGCC totais ( $P=0,015$ ) e AGV totais ( $P=0,017$ ). Estudos relacionam a concentração de AGCC, principalmente ácido acético, a menor tempo de trânsito no cólon (Kvietys e Granger, 1981; Cherbut et al., 1998). Apesar de não estar bem claro devido à complexidade de alterações na senilidade, o envelhecimento altera a motilidade do cólon, apresentando mudança no padrão de contrações de peristálticas para não peristálticas, aumentando a pressão colônica intraluminal (Hall, 2002). Estes fatores – menor trânsito, maior retenção de fezes e maiores concentrações de ácido acético e AGCC – podem ter contribuído para os idosos produzirem fezes com menor umidade. A produção de butirato foi maior na dieta Alto AR, o que é altamente benéfico por ser o principal substrato energético para os colonócitos e por sua deficiência causar atrofia da mucosa colônica (Moreau et al., 2003). Gomes et al. (2011) observaram menores concentrações de butirato nas fezes dos cães idosos, o que não foi observado no presente estudo.

Houve benefício da dieta Alto AR para os idosos já que ocorreu interação ração x idade para as glicemias mínima, média e máxima, que reduziram apenas neste grupo com o consumo da dieta Alto AR. As glicemias mínimas e médias foram maiores para o grupo adulto do que para o grupo idoso na ração Alto AR. As glicemias média e máxima apresentaram tendência a reduzir com a dieta Alto AR

( $P=0,094$ ), enquanto as glicemias mínima e média e o tempo para o pico da glicemia foram maiores nos adultos ( $P=0,048$ ). É relatado na literatura que os cães idosos apresentam absorção mais lenta de glicose a partir de uma refeição (Hayek e Sunvold, 2000), embora exista informação de que a glicemia elevaria-se com o aumento da idade (Strasser et al., 1993). Roberti-Filho (2013) identificou menores variações da glicemia ao longo da resposta pós-prandial para as dietas com maior DGM e teor de AR. Em suínos, Da Silva et al. (2014) também observaram redução dos valores de glicose com dieta rica em AR. Ao avaliar diferentes fontes de carboidrato com diferentes graus de moagem, resultando em DGM diferentes, Bazolli et al (2015) não observaram diferença entre os diferentes DGM sobre a resposta pós-prandial de glicose, apenas entre os ingredientes.

As AAC de glicose também apresentaram interação ração x idade quando os idosos consumiram a dieta Alto AR, ocorrendo redução das AAC em todos os intervalos analisados (inicial, intermediário, final e total). A dieta Alto AR reduziu as glicemias mínimas e médias, sugerindo um padrão de absorção com menores variações. A dieta Alto AR também reduziu a AAC no período 120-240' e apresentou tendência de redução nos períodos 240-720' e 0-720'. A AAC de glicose foi maior para os animais adultos nos períodos 0-120', 240-720' e 0-720', evidenciando as maiores concentrações de glicemia para este grupo ao longo da resposta pós-prandial. Estudo anterior observou aumento linear das AAC total e inicial de glicose para a dieta com menor DGM e maior concentração de AR (Roberti-Filho, 2013).

O incremento máximo de insulina apresentou tendência de redução com a dieta Alto AR. Os níveis séricos de insulina mínima, média e máxima não sofreram

influência dos tratamentos. Entretanto, ao analisar os resultados dos tratamentos em função do tempo ocorreram diferenças em função da idade e dieta. Os idosos apresentaram maiores níveis de insulina sérica ao consumirem dieta Baixo AR nos tempos 60', 240', 300' e 540'. Já ao consumirem dieta Alto AR a diferença de idade ocorreu apenas no período inicial (tempos 15' e 30'), demonstrando benefício do consumo de AR para este grupo etário. Ao comparar o efeito das dietas, apenas no grupo adulto houve redução da concentração de insulina no tempo 30', evidenciando menor adaptação por parte dos idosos à diferente composição da dieta. Em outro estudo com cães, ração com moagem mais fina (menores DGM e concentração de AR) elevou as concentrações séricas de insulina em diversos pontos da curva pós-prandial (Roberti-Filho, 2013). Da Silva et al. (2014) observaram menores valores de insulina plasmática e de pico de insulina em suínos que consumiram dieta com alto AR.

Apenas a AAC total de insulina foi menor para os animais adultos. A AAC do incremento nos idosos também foi maior nos períodos 120-240' e 240-720' e houve tendência de aumento no período 0-720'. Desta forma, apesar de apresentarem menores glicemias e AAC de glicose, os cães idosos necessitaram maior secreção de insulina para obter estas respostas.

No presente estudo foi verificado efeito de idade e ração para produtos de fermentação no intestino, a ração com menor cozimento e maior teor de amido resistente proporcionou maior concentração de produtos de fermentação nas fezes, enquanto cães idosos demonstraram menor concentração de AGCC, embora maior teor de lactato e amônia. O processamento não demonstrou efeito nas respostas de

glicose e insulina de cães adultos, no entanto, o consumo da ração Alto AR pelos cães idosos induziu menor glicemia mínima, média e máxima, além de menores AAC nos momentos inicial, intermediário e tardio. Cães idosos, independentemente da ração, apresentaram também maiores AAC intermediária e total de insulina.

Portanto, conclui-se que o maior consumo de AR e de amido com menor cozimento contribuiu para melhora do microambiente intestinal, demonstrado pela produção de AGCC especialmente butirato, independente da idade. Nos cães idosos benefício adicional foi verificado pela redução da amônia nas fezes. Cães idosos apresentaram maior secreção pós-prandial de insulina para manter glicemia. A dieta com menor processamento foi efetiva em reduzir a glicemia nos idosos, mas não nos adultos.

### **Agradecimentos**

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa de mestrado (processo 2014/16501-1), à Guabi PetCare pelos ingredientes das dietas e ao Laboratório de Apoio à Pesquisa do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, UNESP, Campus de Jaboticabal pelo suporte durante as análises.

## Referências

- AAFCO, 2009: *Official publication*. Association of American Feed Control Officials, Washington, DC.
- AOAC, 1995: *Official and Tentative Methods of Analysis*. Association of the Official Chemists, Arlington.
- AOAC, 2002: *Official and Tentative Methods of Analysis*. Association of the Official Chemists, Arlington.
- Bazolli, R S.; Vasconcellos, R.S.; de-Oliveira, L.D.; Sá, F.C.; Pereira, G.T.; Carciofi, A.C., 2015: Effect of the particle size of maize, rice, and sorghum in extruded diets for dogs on starch gelatinization, digestibility, and the fecal concentration of fermentation products. *Journal of Animal Science* **93**, 2956-2966.
- Beloshapka, A. N.; Alexander, L.G.; Buff, P.R.; Swanson, K.S., 2014: The effects of feeding resistant starch on apparent total tract macronutrient digestibility, faecal characteristics and faecal fermentative end-products in healthy adult dogs. *Journal of Nutritional Science* **3**, e38.
- Bergman, R. N., 1989: Toward Physiological Understanding of Glucose Tolerance: Minimal-Model Approach. *Diabetes*, **38**, 1512–1527.
- Bhashyam, S.; Parikh, P.; Bolukoglu, H.; Shannon, A.H.; Porter, J.H.; Shen, Y.T.; Shannon, R.P., 2007: Aging is associated with myocardial insulin resistance and mitochondrial dysfunction. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, **293**, H3063-3071.
- Bouchard, G F.; Sunvold, G.D., 1999: Improving canine glycemic response to a meal with dietary starch. In: *Proceedings of the North American Veterinary Conference - Recent advances in clinical management of diabetes mellitus*, 16-19.
- Burkholder, W.J., 1999: Age-related changes to nutritional requirements and digestive function in adult dogs and cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, **215**, 625-629.
- Carciofi, A.C., 2008: Fontes de Proteína e Carboidratos para Cães e Gatos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, **37**, 28-41.
- Carciofi, A.C.; Takakura, F.S.; de-Oliveira, L.D.; Teshima, E.; Jeremias, J.T.; Brunetto, M.A.; Prada, F., 2008: Effects of six carbohydrate sources on dog diet digestibility and post-prandial glucose and insulin response. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, **92**, 326-336.
- Carciofi, A.C.; Jeremias, J.T., 2010: Progresso Científico sobre nutrição de animais de companhia na primeira década do século XXI. *Revista Brasileira de Zootecnia (Online)*, **39**, 35-41.

- Cherbut, C.; Ferrier, L.; Rozé, C.; Anini, Y.; Blottière, H.; Lecannu, G.; Galmiche, J.P., 1998: Short-chain fatty acids modify colonic motility through nerves and polypeptide YY release in the rat. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, **275**, G1415-G1422.
- Da Silva, C.S.; Hanen, D.; Koopmans, S.J.; Hooiveld, G.J.; Bosch, G.; Bolhuis, J.E., Kemp, B.; Müller, M.; Gerrits, W.J.J., 2014: Effects of resistant starch on behaviour, satiety-related hormones and metabolites in growing pigs. *Animal*, **8**, 1402-1411.
- Erwin, E.S.; Marco, G.J.; Emery, E.M., 1961: Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. *Journal of Dairy Science*, n, 1768-1771.
- Fahey Junior, G.C.; Barry, K.A.; Swanson, K.S., 2008: Age-related changes in nutrient utilization by companion animals. *The Annual Review of Nutrition*, **28**, 425-445.
- FEDIAF, 2013: *Nutritional Guidelines for Complete and Complementary Pet Food for Cats and Dogs*. The European Pet Food Industry Federation, Bruxelas.
- Frailha, M.; Biagi, J.D.; Queiroz, M.R.; Benedetti, B.C., 2005: Benefício do investimento energético na redução do tamanho de partículas na alimentação animal. In: *Simpósio de Engenharia de Produção*, 9, Bauru, Anais....
- Freeman, L.M., 2012: Cachexia and sarcopenia: emerging syndromes of importance in dogs and cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, **26**, 3-17.
- Gomes, M.O.S.; Beraldo, M.C.; Putarov, T.C.; Brunetto, M.A.; Zaine, L.; Gloria, M.B.A.; Carciofi, A.C., 2011: Old beagle dogs have lower fecal concentrations of some fermentation products and lower peripheral lymphocyte counts than young adult beagles. *British Journal of Nutrition*, **106**, S187-S190.
- Gomes, M.O.S., 2013: **Microbiota fecal, produtos de fermentação, aspectos histológicos da mucosa intestinal e imunidade de cães beagles de diferentes idades**. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal.
- Hall, K.E., 2002: II. Neural control of the aging gut: can an old dog learn new tricks?. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, **283**, G827-G832.
- Hayek, M.G.; Sunvold, G.D., 2000: Influence of age on glucose metabolism in the senior companion animal: implications for long-term senior health. In: Reinhart, G.A.; Carey, D.P. *Recent advances in canine and feline nutrition*. Wilmington, OH, 403-413.
- Holm, J.I.; Bjorck, A.; Drews, N.G., 1986: A rapid method for the analysis of starch. *Starch/Starke*, **38**, 224-226.
- ICC, 1995: *Standard Methods. Determination of Starch Content by Calcium Chloride Dissolution*. International Association for Cereal Science and Technology, Vienna.

- Karkalas, J.J., 1985: An improved enzymatic method for determination of native and modified starch. *Journal of Science and Food Agriculture*, **36**, 1019-1027.
- Kovatcheva-Datchary, P.; Egert, M.; Maathuis, A.; Rajilic-Stojanovic, M.; De Graaf, A.A.; Smidt, H.; De Vos, W.M.; Venema, K., 2009: Linking phylogenetic identities of bacteria to starch fermentation in an in vitro model of the large intestine by RNA-based stable isotope probing. *Environmental Microbiology*, **11**, 914-926.
- Kuzmuk, K.N.; Swanson, K.S.; Tappenden, K.A.; Schook, L.B.; Fahey Jr, G.C., 2005: Diet and age affect intestinal morphology and large bowel fermentative end-product concentrations in senior and young adult dogs. *The Journal of Nutrition*, **135**, 1940-1945.
- Kvietys, P.R.; Granger, D.N., 1981: Effect of volatile fatty acids on blood flow and oxygen uptake by the dog colon. *Gastroenterology*, **80**, 962-969.
- Laflamme, D.P., 2005: Nutrition for aging cats and dogs and the importance of body condition. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, **35**, 713-42.
- Larson, B.T.; Lawler, D.F.; Spitznagel, E.L.; Kealy, R.D., 2003: Improved glucose tolerance with lifetime diet restriction favorably affects disease and survival in dogs. *The Journal of Nutrition*, **133**, 2887-2892.
- Maria, A.P.J., 2013: **Intervenção Nutricional no Estudo do Envelhecimento do Trato Gastrointestinal em Cães**. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal.
- Mori, N.; Kawasumi, K.; Arai, T., 2012: Comparison of the plasma insulin and adiponectin concentrations as metabolic markers in clinically healthy dogs with ageing. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, **11**, 971–974.
- Muir, J.G.; O’Dea, K., 1992: Measurement of resistant starch: factors affecting the amount of starch escaping digestion in vitro. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **56**, 123-127.
- Nacional Research Council (US) Ad Hoc Committee on Dog and Cat Nutrition: **Nutrient Requirements of Dogs and Cats**, 2006. Rev. National Academies Press, Washington, DC.
- Nugent, A.P., 2005: Health properties of resistant starch. *Nutrition Bulletin*, **30**, 27-54.
- Pryce, J.D., 1969: A modification of the Barker-Summerson method for the determination of lactic acid. *The Analyst*, **94**, 1151-1152.
- Respondek, F.; Swanson, K.S.; Belsito, K.R.; Vester, B.M.; Wagner, A.; Istasse, L.; Diez, M., 2008: Short-chain fructooligosaccharides influence insulin sensitivity and gene expression of fat tissue in obese dogs. *The Journal of Nutrition*, **138**, 1712-1718.
- Reynolds, B.; Taillade, B.; Médaille, C.; Palenché, F.; Trumel, C.; Lefebvre, H.P., 2006: Effect of repeated freeze-thaw cycles on routine plasma biochemical constituents in canine plasma. *Veterinary Clinical Pathology*, **35**, 339-340.

- Riaz, M.N., 2003. Extrusion basics. In: Kvamme, J.L.; Phillips, T.D. *Petfood Technology*. Mt Morris, Illinois, 347-360.
- Roberti-Filho, F.O., 2013: **Influência da granulometria da matéria prima e da configuração de extrusora no conteúdo de amido resistente, digestibilidade, fermentação intestinal e respostas metabólicas de cães**. 2013. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal.
- Sá, F.C.; Vasconcellos, R.S.; Brunetto, M.A.; Filho, F.O.R.; Gomes, M.O.S.; Carciofi, A.C., 2013: Enzyme use in kibble diets formulated with wheat bran for dogs: effects on processing and digestibility. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, **97**, 51-59.
- Sá, F.C., 2015: **Energia Mecânica, Energia Térmica e Moagem na Extrusão de Alimentos para Cães e Gatos**. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal.
- Spears, J.K.; Fahey Junior., G.C., 2004: Resistant starch as related to companion animal nutrition. *Journal of Association Official Analysis Chemistry International*, **87**, 787-791.
- Strasser, A.; Niedermüller, H.; Hofecker, G.; Laber, G., 1993: The effect of aging on laboratory values in dogs. *Journal of Veterinary Medicine Series A*, **40**, 720-730.
- Swanson, K.S.; Kuzmuk, K.N.; Schook, L.B.; Fahey Junior, G.C., 2004: Diet affects nutrient digestibility, hematology, and serum chemistry of senior and weanling dogs. *Journal of Animal Science*, **82**, 1713-1724.
- Taylor, E.J.; Adams, C.; Neville, R., 1995: Some nutritional aspects of ageing in dogs and cats. *Proceedings of the Nutrition Society*, **54**, 645-656.
- Teshima, E.; Brunetto, M.A.; Jeremias, J.T.; Nogueira, S.P.; Lucas, S.R.; Carciofi, A.C., 2010: Influence of starch source and nutritional management on the glycemic control of diabetic dogs. In: *Proceedings of The Waltham International Nutritional Sciences Symposium*. I, 98.
- Topping, D.L.; Clifton, P.M., 2001: Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. *Physiological Reviews*, **81**, 1031-1064.
- Vieira, P.F., 1980: **Efeito do formaldeído na proteção de proteínas e lipídios em rações para ruminantes**. 98 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.