BRANA SANCTOS ALÔ BONDER

Composição corporal, status inflamatório e nutricional de cães em pós-cirúrgico alimentados com dieta formulada com altos teores de gordura, proteína e ácidos graxos poli-insaturados ômega-3

São Paulo

2017

BRANA SANCTOS ALO BONDER

Composição corporal, status inflamatório e nutricional de cães em pós-cirúrgico alimentados com dieta formulada com altos teores de gordura, proteína e ácidos graxos poli-insaturados ômega-3

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Ciências

Departamento:

Clínica Médica

Área de concentração:

Clínica Veterinária

Orientador:

Prof. Dr. Marcio Antonio Brunetto

De acordo: _____

Orientador

São Paulo

2017

Obs: A versão original se encontra disponível na Biblioteca da FMVZ/USP

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T. 3497
FMVZ

Bonder, Brana Sanctos Alô

Composição corporal, status inflamatório e nutricional de cães em pós-cirúrgico alimentados com dieta formulada com altos teores de gordura, proteína e ácidos graxos poli-insaturados ômega-3. / Brana Sanctos Alô Bonder. -- 2017.
81 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Clínica Médica, São Paulo, 2017.

Programa de Pós-Graduação: Clínica Veterinária.

Área de concentração: Clínica Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Marcio Antonio Brunetto.

1. Citocinas. 2. Deutério. 3. Ácidos graxos. 4. EPA. 5. Cirurgia. I. Título.

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "COMPOSIÇÃO CORPORAL, STATUS INFLAMATÓRIO E NUTRICIONAL DE CÃES EM PÓS-CIRÚRGICO ALIMENTADOS COM DIETA FORMULADA COM ALTOS TEORES DE GORDURA, PROTEÍNA E ÁCIDOS GRAXOS POLINSATURADOS ÔMEGA- 3", protocolada sob o CEUA nº 6348210316, sob a responsabilidade de **Márcio Antônio Brunetto** e equipe; *Brama Sanctos Alo Bonder* - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 18/05/2016.

We certify that the proposal "BODY COMPOSITION, INFLAMMATORY AND NUTRITIONAL STATUS IN POST- SURGICAL DOGS FED WITH DIET FORMULATED WITH HIGH LEVELS OF FAT, PROTEIN AND OMEGA-3 POLYUNSATURATED FATTY", utilizing 12 Dogs (males and females), protocol number CEUA 6348210316, under the responsibility of **Márcio Antônio Brunetto** and team; *Brama Sanctos Alo Bonder* - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 05/18/2016.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **03/2016** a **11/2016**

Área: **Clínica Médica Veterinária**

Origem: **HOVET/FMVZ/USP**

Espécie: **Cães**

sexo: **Machos e Fêmeas**

idade: **1 a 12 anos**

N: **12**

Linhagem: **todas as raças**

Peso: **2 a 50 kg**

Resumo: A resposta inflamatória à cirurgia ou trauma se baseia em eventos adaptativos que objetivam maximizar o potencial curativo, a qual está relacionada diretamente a ação de citocinas. Além disso, durante este período o animal pode apresentar alterações de apetite que muitas vezes culminam em caquexia, a qual seu desenvolvimento também está associado à ação das citocinas. Com isso, o fornecimento de nutrientes e energia suficientes é primordial para garantir o adequado funcionamento gastrointestinal e ótima resposta imunológica. O objetivo da pesquisa é avaliar os efeitos de um alimento com alta concentração de gordura, proteína e ácidos graxos polinsaturados ômega- 3 no status nutricional, status pré e pró inflamatório e composição corporal de cães em hipermetabolismo. O estudo será constituído por 2 grupos distintos constituído por 12 cães fêmeas submetidas à ovarioparingohisterectomia ou mastectomia unilateral de cães atendidos pelo Serviço de Obstetrícia do HOVET/FMVZ-USP. Serão dosadas as citocinas INF- γ , IL-6, IL-15, IL-12 e composição corporal será estimada pelo método de deutério. O teste t-Student será utilizado para análise estatística de dados pareados e teste não paramétrico de Wilcoxon para variáveis que não atendem a suposição de normalidade.

Local do experimento: **HOVET/FMVZ**

São Paulo, 31 de março de 2017

Profa. Dra. Denise Tabacchi Fantoni
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Roseli da Costa Gomes
Secretaria Executiva da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: BONDER, Brana Sanctos Alô

Título: **Composição corporal, status inflamatório e nutricional de cães em pós-cirúrgico alimentados com dieta formulada com altos teores de gordura, proteína e ácidos graxos poli-insaturados ômega-3**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a minha família por todo apoio às minhas escolhas.

Agradeço ao meu orientador Prof. Marcio Brunetto por ter me recebido no grupo e me auxiliado em todo esse projeto, além de contribuir para o meu enriquecimento profissional.

Agradeço à Premier pet pelo auxílio na pesquisa.

Agradeço à Profa. Clair, Dra. Mariana e Dr. Marcelo por permitirem que esse projeto fosse realizado no setor de Obstetrícia e por toda ajuda e empenho para que o estudo prosseguisse. Sou muito grata pela ajuda.

Agradeço à Profa. Denise e os pós-graduandos Lucas, Júlio e Marco que realizaram a anestesia dos pacientes.

Agradeço à Profa. Cris Massoco, Nicole, Vagner e Herculano por me auxiliaram nas análises de linfoproliferação.

Agradeço aos pós-graduandos que de uma maneira ou de outra contribuíram em algum momento, mas especialmente à Mariana e Fábio que me ajudaram desde as coletas aos momentos de desespero na véspera do depósito e ao Caio que realizou as avaliações cardiológicas dos pacientes.

RESUMO

BONDER, B. S. A. **Composição corporal, status inflamatório e nutricional de cães em pós-cirúrgico alimentados com dieta formulada com altos teores de gordura, proteína e ácidos graxos poli-insaturados ômega-3.** [Body composition, inflammatory and nutritional status in post- surgical dogs fed with diet formulated with high levels of fat, protein and omega-3 polyunsaturated fatty acids]. 2017. 81 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

Os ácidos graxos poli-insaturados da família Ω -3 são classificados como possíveis agentes anti-inflamatórios devido à formação de eicosanóides inflamatórios menos potentes. Cães no período pós-cirúrgico ou com câncer podem desenvolver resposta inflamatória exacerbada, o que pode ser danoso ao organismo. Assim, a intervenção nutricional é parte da terapia para suporte do sistema imune e da modulação da inflamação. O objetivo deste estudo foi verificar a modulação da resposta inflamatória, o status nutricional e a composição corporal de cadelas no período pós-cirúrgico consumindo dieta com alto teor de proteína, gordura, EPA e DHA. Doze animais foram incluídos e divididos em dois grupos experimentais que receberam dietas distintas: grupo A - ração para cão adulto em manutenção sem EPA e DHA; grupo B - ração teste com alto teor de proteínas, gordura e EPA/DHA por meio de enriquecimento da dieta com óleo de peixe. Mensurações séricas de TNF- α , IL-6, IL-10, IGF-1, proteína C reativa (PCR); determinação da composição corporal por deutério; e parâmetros nutricionais laboratoriais foram realizados em intervalos periódicos ao longo de 51 dias. Testes estatísticos paramétricos e não paramétricos foram utilizados para comparar a quantidade de nutrientes ingeridos e efeito da ingestão de óleo de peixe nos parâmetros inflamatórios, nutricionais e na porcentagem de massa muscular (MM) e gordura corporal (GC). Não foram observadas diferenças nas concentrações de citocinas ($p > 0,05$) nem de PCR ($p = 0,51$) entre as dietas. Quando considerado o tipo de dieta independente do tempo de análise, pôde-se constatar que o grupo B teve maior concentração de IGF-1 ($p = 0,04$), MM ($p < 0,01$) e menor GC ($p < 0,01$), no qual os dois últimos parâmetros tiveram correlação positiva com escore de condição corporal e muscular avaliados no exame físico. Conclui-se que o teor de EPA e DHA na concentração avaliada neste estudo não foi suficiente para modular a inflamação, mas apresenta potencial efeito benéfico na manutenção da massa muscular.

Palavras-chave: citocinas, deutério, ácidos graxos, EPA, cirurgia

ABSTRACT

BONDER, B. S. A **Body composition, inflammatory and nutritional status in post- surgical dogs fed with diet formulated with high levels of fat, protein and omega-3 polyunsaturated fatty acids.** [Composição corporal, status inflamatório e nutricional de cães em pós-cirúrgico alimentados com dieta formulada com altos teores de gordura, proteína e ácidos graxos poli-insaturados ômega- 3]. 2017. 81 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

Omega 3 polyunsaturated fatty acids family are said to be anti-inflammatory agents due to the formation of less potent inflammatory eicosanoids. Dogs in the post-surgical or with cancer can develop an unwanted inflammatory response, which can be harmful to these. Thus, nutritional intervention is part of the therapy for the support of the immune system and the modulation of inflammation. The objective of this study was to verify the inflammatory response modulation, nutritional status and body composition of bitches in the post-surgical period consuming diet with high protein, fat, EPA and DHA content. Twelve bitches were included and divided into two groups receiving different diets: group A – extruded dry feed for adult dogs in maintenance without EPA and DHA; Group B - extruded dry feed with high protein, fat and EPA/DHA levels through dietary enrichment with fish oil. Serum measurements of TNF- α , IL-6, IL-10, IGF-1, C-reactive protein (CRP); determination of body composition by deuterium; and nutritional laboratories parameters were performed at periodic intervals over 51 days. Parametric and non-parametric statistical tests were used to compare the amount of nutrients ingested and the effect of fish oil intake on inflammatory, nutritional parameters and percentage of muscle mass (MM) and body fat (BF). There were no differences in cytokines ($p > 0.05$) or CRP ($p = 0.51$) concentrations between diets. When considering the type of diet independent of the time of analysis, it can be seen that group B had a higher concentration of IGF-1 ($p = 0.04$), MM ($p < 0.01$) and lower BF ($p < 0.01$), which the last two parameters had a positive correlation with body and muscle condition score assessed on physical examination. It is concluded that the EPA and DHA content of this study can not modulate the inflammation, but has a potential beneficial effect on the maintenance of the body composition.

Keywords: cytokines, deuterium, fatty acid, EPA, surgery.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1	BIOSSÍNTESE E AÇÃO BIOLÓGICA DOS ÁCIDOS GRAXOS POLI-INSATURADOS.....	17
2.2	O PAPEL DOS ÁCIDOS GRAXOS POLI-INSATURADOS NA SÍNTESE DE MEDIADORES INFLAMATÓRIOS	18
2.3	RESPOSTA IMUNOLÓGICA.....	19
2.4	CITOCINAS	20
2.4.1	FATOR DE NECROSE TUMORAL	21
2.4.2	INTERLEUCINA-6	21
2.4.3	AÇÃO SOBRE PROTEÍNAS DE FASE AGUDA	22
2.4.4	INTERLEUCINA-10	23
2.5	INFLUÊNCIA DAS CITOCINAS NA REGULAÇÃO DA INGESTÃO ALIMENTAR E HOMEOSTASE ENERGÉTICA	24
2.6	A RELAÇÃO DO PROCESSO CATABÓLICO E AÇÕES MEDIADAS POR CITOCINAS	25
2.7	MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO CORPORAL ..	27
2.8	RESPOSTA INFLAMATÓRIA EM PACIENTES NO PÓS-CIRÚRGICO	28
2.8.1	SUPORTE NUTRICIONAL DO PACIENTE CRÍTICO	30
3	HIPÓTESE	32
4	OBJETIVOS	34
5	MATERIAL E MÉTODOS	36
5.1	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	36
5.2	SELEÇÃO DOS ANIMAIS	36
5.3	AMOSTRAS DE SANGUE E ANÁLISES LABORATORIAIS	37
5.3.1	HEMOGRAMA, DOSAGENS BIOQUÍMICAS SÉRICAS DE ROTINA E GLICEMIA	37
5.3.2	PARÂMETROS DE COAGULAÇÃO	39
5.3.3	CITOCINAS, PROTEÍNA C REATIVA E IGF-1	40
5.3.4	LINFOPROLIFERAÇÃO	41
5.3.5	COMPOSIÇÃO CORPORAL	42

5.4	DIETAS	42
5.5	PROTOCOLO DE PROCEDIMENTO ANESTÉSICO- CIRÚRGICO	43
5.6	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	45
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
6.1	ANIMAIS	46
6.2	INGESTÃO ALIMENTAR, STATUS NUTRICIONAL E COMPOSIÇÃO CORPORAL	46
6.3	CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE CITOCINAS, PROTEÍNA C REATIVA E IGF-1	51
6.4	PARÂMETROS DE COAGULAÇÃO ROTINEIROS.....	58
6.5	LINFOPROLIFERAÇÃO	59
6.6	PARTICULARIDADES DO ESTUDO E SUAS LIMITAÇÕES	61
7	CONCLUSÕES	61
8	APÊNDICE I	63
	REFERÊNCIAS	67

1. INTRODUÇÃO

Pacientes que apresentam trauma, câncer ou estão em estado crítico são mais susceptíveis ao desenvolvimento da caquexia. Esta é considerada uma síndrome de causa multifatorial caracterizada pela perda de massa muscular (EVANS et al., 2008). Inúmeras variáveis estão envolvidas na etiologia da caquexia, como alteração de hormônios circulantes, neuropeptídeos e neurotransmissores decorrentes do estado de doença e a presença de fatores relacionados ao tumor, quando presente. Em conjunto, estes induzem o estabelecimento de um estado hipermetabólico, situação diferente de uma simples inanição (SAKER; REMILLARD, 2010). Ademais, hoje é estabelecida a importância do papel das citocinas nesse cenário, das quais já foram descritas suas ações periféricas e centrais que induzem a ativação de vias lipolíticas/proteolíticas e o aumento da expressão de neuropeptídeos anorexígenos (PATRA; ARORA, 2012).

A intervenção nutricional nesse caso tem por objetivo reverter o quadro clínico desfavorável estabelecido, uma vez que a caquexia pode ser usada como fator prognóstico (BAEZ et al., 2007) e o fornecimento energético-proteico adequado está correlacionado com menor tempo de hospitalização (JOHANSEN et al., 2004; BRUNETTO et al., 2010). Deste modo, indica-se a utilização de alimento com alto teor de proteína com intuito de poupar proteínas do músculo esquelético e corrigir o balanço nitrogenado negativo e também com alto teor de gordura para fornecer aporte calórico e aumentar a palatabilidade do alimento. Além disso, certos nutrientes possuem efeitos farmacológicos e são capazes de modular o processo inflamatório instalado em animais doentes, fazendo com que se tornem alvo de investigação científica (CHAN, 2004).

O processo inflamatório estimula a resposta imunológica frente à injúria em questão ou a um patógeno. Porém, a resposta inflamatória exacerbada promove maior síntese de eicosanóides inflamatórios oriundos do ácido araquidônico (AA), ácido graxo poli-insaturado componente estrutural da membrana celular. O ácido eicosapentanoico (EPA), outro componente estrutural, também é precursor de eicosanóides; entretanto, este possui menor potencial inflamatório. Deste modo, é possível modular a resposta imune e a inflamação com o aumento da ingestão de EPA, encontrado principalmente no óleo de peixe (CALDER, 2006).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 BIOSÍNTESE E AÇÃO BIOLÓGICA DOS ÁCIDOS GRAXOS POLI-INSATURADOS

A ingestão de lipídeos é benéfica para os animais, pois além de ser a fonte mais concentrada de energia, fornece ácidos graxos essenciais (EFA - *essential fatty acids*). Os EFAs são identificados de acordo com o número de átomos de carbono, com a posição e o número de ligações duplas na cadeia, no qual o posicionamento da primeira dupla ligação – contando-se a partir do grupo metil - é que origina a nomenclatura como n-3, n-6, n-7 e n-9. Todos os EFAs são poli-insaturados, ou seja, contém duas ou mais ligações covalentes, dentre os quais há duas famílias principais de ácidos graxos poli-insaturados (PUFA - *polyunsaturated fatty acids*): n-3 e n-6, comumente chamados como ômega 3 (Ω -3) e ômega 6 (Ω -6), respectivamente (CASE et al., 2011a). Mamíferos não são capazes de sintetizar estes PUFA devido à falta das enzimas delta-12 e delta-15 dessaturase, as quais atuam na inserção das duplas ligações em suas respectivas posições adequadas. Estes ácidos graxos são considerados os principais substratos para muitos reguladores lipídicos. Com isso, n-3 e n-6 são considerados ácidos graxos essenciais e devem ser consumidos na dieta (CALDER, 2003). Os principais ácidos graxos são o ácido linoleico (18:2n-6) e ácido α -linolênico (18:3n-3) e estes originam derivados com cadeias carbônicas maiores e com maior número de insaturações. Assim, o ácido linoleico é convertido aos ácidos γ -linoleico (18:3n-6), dihom- γ -linoleico (20:3n-6) e AA (20:4n-6). Por sua vez, o ácido α -linolênico é convertido ao ácido eicosapentanoico (EPA; 20:5n-3) e ao ácido docosahexanoico (DHA; 22:6n-3) (CALDER, 2003; GROSS et al., 2010).

Os PUFAs possuem diversas ações biológicas. Primeiramente, estes são importantes componentes da membrana fosfolipídica das células e podem determinar alterações estruturais e funcionais da membrana, inclusive de células do sistema imune, o que pode afetar estabilidade, permeabilidade, atividade de receptores e enzimas, funções regulatórias e do metabolismo celular (TORRINHAS; CAMPOS; WAITZBERG, 2009). Uma vez incorporados na membrana, são fontes de

moléculas mensageiras secundárias, dentre elas o AA, diacilglicerol e ácido fosfatídico, os quais são responsáveis pela sinalização de eventos com objetivo de promover apropriada resposta celular, tanto da membrana ao citosol e ao núcleo, como também pelas respostas extracelulares (CALDER, 2003). Além disso, os PUFA são substratos para biossíntese de moléculas bioativas como prostaglandinas (PG), tromboxanos (TX) e leucotrienos (LC) (GROSS et al., 2010). Inúmeros PUFA constituídos por 20 carbonos são precursores de eicosanóides; entretanto, o AA é considerado o principal devido a sua abundância na membrana celular (CALDER, 2003; TORRINHAS; CAMPOS; WAITZBERG, 2009).

2.2 O PAPEL DOS ÁCIDOS GRAXOS POLI-INSATURADOS NA SÍNTESE DE MEDIADORES INFLAMATÓRIOS

Uns dos principais mediadores no quadro inflamatório são os eicosanóides. Sua produção é ativada pela lesão celular, que por sua vez promove a liberação do AA ou EPA do fosfolipídio da membrana celular pela ação da enzima fosfolipase A₂ (RANG et al., 2008). Uma vez que o ácido graxo é liberado, este pode ser degradado por duas enzimas: ciclooxigenase (COX) ou lipooxigenase (LOX) (TASAKA, 1999; TORRINHAS; CAMPOS; WAITZBERG, 2009). Assim, originam-se prostanóides - PG, TX e LT, mediadores lipídicos inflamatórios que influenciam vias bioquímicas e sinais de transdução, aumentando algumas respostas e diminuindo outras, no qual cada um possui funções específicas (CHAN, 2015). A síntese de eicosanóides varia de acordo com o tipo celular que o está produzindo, pois há diferenças dos grupos enzimáticos predominantes (TASAKA, 1999).

Os eicosanóides modulam a resposta inflamatória de forma desigual. Refere-se que os mediadores sintetizados a partir do AA (PGE₂, PGI₂, PGD₂, PGF_{2α}, TXA₂, LTB₄) possuem maior potencial pró-inflamatório, quando comparados aos oriundos do EPA (PGE₃, PGI₃, TXA₃, LTB₅). Os prostanóides e leucotrienos da série par, de forma geral, promovem vasodilatação, broncoconstrição, agregação plaquetária e aumento da permeabilidade vascular (HAN et al., 2012). A partir deste fato, refere-se que os derivados dos ácidos graxos Ω-3 possuem potencial anti-inflamatório. Sendo assim, é possível modular a ação biológica de acordo com o tipo

de ácido graxo usado como substrato primário na cascata de inflamação. Este evento será afetado pela proporção de Ω -6 e Ω -3 consumido, pois irá refletir na concentração de PUFA na membrana celular (HAN et al., 2012). Em cães saudáveis foi possível observar aumento de EPA e DHA séricos em 14 dias após a ingestão de dieta contendo relação Ω -6: Ω -3 5:1 (HESTA et al., 2012). Uma vez ingerido maior teor de ácidos Ω -3, ocorrerá maior incorporação destes às membranas celulares e, possível consequente aumento na formação de eicosanóides menos inflamatórios (CASE et al., 2010).

2.3 RESPOSTA IMUNOLÓGICA

A inflamação tem função de reparar a estrutura e funcionamento do tecido lesionado ou infeccionado, considerado um processo ativo com participação de mediadores e citocinas. A reação inflamatória é composta por dois componentes gerais abrangentes: resposta inata não adaptativa e resposta imunológica adaptativa. A resposta inata ocorre imediatamente após a lesão ou infecção e possui importante papel no reconhecimento dos antígenos. A interação entre receptores de reconhecimento e as moléculas dos patógenos estimula vias de sinalização intracelular, as quais induzem a produção de citocinas pró-inflamatórias e mediadores que atuam sobre as células endoteliais (RANG et al., 2008; TIZARD, 2014a).

A resposta imunológica adaptativa é mais eficiente e específica e os linfócitos são relevantes nessa fase (RANG et al., 2008). Eles atuam tanto no reconhecimento específico do antígeno como na produção de citocinas que estimulam a proliferação de linfócitos (RANG et al., 2008). Neste momento, dois tipos de respostas imunológicas diferentes podem ser desencadeadas e estas dependem da ação de interleucinas (IL). IL como IL-12, IL-2, fator de necrose tumoral- β (TNF- β) e interferon gama (INF- γ) induzem respostas mediadas por células, com ativação de macrófagos e linfócitos (resposta Th1). Em contrapartida, IL-4, fator de transformação de crescimento- β (TGF- β , *transform growth factor*- β) e IL-10 estimulam a ativação de eosinófilos e a produção de anticorpos pelas células B

(resposta Th2). O desencadeamento de uma determinada via tende a inibir a outra (RANG et al., 2008).

2.4 CITOCINAS

As citocinas são proteínas que medeiam à comunicação entre diferentes tipos celulares e controlam as respostas imunológicas, com objetivo de manter a homeostase corporal total (GIANNOUDIS, 2003). Raramente células do sistema imune secretam uma única citocina e inúmeras citocinas podem ter efeitos biológicos similares. Elas atuam sobre diversos alvos celulares e tem a capacidade de produzir efeitos autócrinos (atuam nas células onde foram produzidas), parácrinos (ação exercida em células próximas) e endócrinos (afetam células alvo em locais distantes) por meio da interação com receptores localizados na superfície das células (TIZARD, 2014b). Com a interação, o receptor transmite um sinal para a célula modificar seu comportamento como, por exemplo, induzir a divisão e diferenciação celular, produzir proteínas ou, até mesmo, os efeitos opostos (GIANNOUDIS, 2003; TIZARD, 2014b).

Após a injúria, é possível que efeitos multissistêmicos sejam observados e resposta generalizada seja desenvolvida, o que caracteriza o processo de doença. Dentre todas as citocinas, destacam-se três principais indutoras dos sinais de doença: fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), IL-1 e IL-6, atuando no cérebro, fígado e medula óssea. (TIZARD, 2014c). Hoje, sabe-se que o sistema nervoso central (SNC) funciona como um receptor e amplificador dos sinais inflamatórios periféricos e, assim, comanda as respostas correlacionadas com doença aguda e crônica, importantes para defesa do organismo, como anorexia, febre, letargia e catabolismo proteico. Porém, essas alterações em longo prazo podem levar a neurodegeneração e caquexia (BURFEIND; MICHAELIS; MARKS, 2016). As citocinas podem alcançar o cérebro por diferentes rotas, tanto pela via mediada por neurônios - principalmente o nervo vago, como por meio da difusão na corrente sanguínea e pela produção local de citocinas (TIZARD, 2014c). A ação das citocinas ocorre principalmente no hipotálamo, já que órgãos circunventriculares não apresentam barreira hematoencefálica, (VITKOVIC et al., 2000), o que permite sua

entrada por difusão de volume. Como efeito, na inflamação sistêmica é de notável conhecimento que ocorra aumento na expressão de citocinas no órgão.

2.4.1 FATOR DE NECROSE TUMORAL

Produzido na sua forma solúvel ou ligada a membrana, sua síntese ocorre no início da inflamação por células endoteliais, linfócitos T e B e fibroblastos estimulados. Considerado como mediador essencial, o TNF- α solúvel desencadeia a liberação de quimiocinas e de demais citocinas (IL-1, IL-6, IL-8) em células próximas, promovendo a adesão, migração, atração e ativação de leucócitos. Também atua sobre os neutrófilos, com o aumento na sua capacidade microbicida e de adesão vascular e os atrai às áreas de lesão tecidual. Seu aumento local promove calor, aumento de volume, dor e rubor, sinais clássicos da inflamação (TIZARD, 2014a). Embora o TNF- α tenha efeitos diretos em diversos órgãos alvo, esta citocina possui potente ação no hipotálamo no desenvolvimento da anorexia, mas também afeta a termogênese e induz o aumento da frequência respiratória (ROTHWELL, 1988; ROMANATTO et al., 2007).

2.4.2 INTERLEUCINA-6

A IL-6 é uma glicoproteína sintetizada também por linfócitos T em estímulo à endotoxinas bacterianas, IL-1 e TNF- α (TIZARD, 2014a). A ativação de seus genes alvo envolvem diferenciação, sobrevivência, regulação de apoptose e proliferação. Considerado como o principal mediador da reação de fase aguda e do choque séptico, interfere na inflamação e na resposta imune adaptativa. Contudo, atua também na hematopoiese, fígado, regeneração neuronal, desenvolvimento embriológico e fertilidade e exerce sua ação pela ativação principalmente da via de transcrição JAK/STAT (HEINRICH et al., 2003). A relação IL-6: IL-10 foi usada em pacientes humanos com traumas severos em peito e abdômen como marcador, nos quais foram evidenciados que a razão entre elas está relacionada com a severidade

da injúria (TANIGUCHI et al., 1999). Além disso, estudo de coorte em humanos submetidos à ressecção pancreática observou alta correlação da IL-6 com o pior prognóstico nesse tipo de enfermidade (DENLEY et al., 2013). No câncer, a super expressão de IL-6 induz o aumento da proteína anti-apoptótica Mcl-1, importante para proteção das células tumorais contra apoptose (JEE et al., 2002). Entretanto, exerce efeito também anti-inflamatório, pois promove a produção de IL-1RA e IL-10 (TIZARD, 2014a). Na cicatrização, esta citocina age em conjunto com o fator de crescimento de queratinócitos para promoção da proliferação, diferenciação e migração dos queratinócitos para o interior da lesão (ALVES; WAITZBERG, 2009).

2.4.3 AÇÃO SOBRE PROTEÍNAS DE FASE AGUDA

Em resposta à infecção aguda, inflamação, neoplasia e dano tecidual, o fígado produz proteínas de fase aguda (MICHELSEN et al., 2012). Já foram identificadas cerca de 30 proteínas; contudo, julga-se que no cão a proteína C reativa (PCR) seja a principal delas. Sua ligação com a membrana e receptores de anticorpos presentes nos neutrófilos proporciona a fagocitose e a remoção de células danificadas e mortas, assim como microrganismos. Além disso, pode-se relatar que a mesma tem ação anti-inflamatória por inibir a degranulação de superóxidos pelos neutrófilos e agregação plaquetária. O aumento da sua produção ocorre aproximadamente 90 minutos após a lesão ou inflamação sistêmica e retrocede dentro de 48 horas (TIZARD, 2014c).

A IL-6 tem intensa influência na síntese e secreção de proteínas. Em cães saudáveis, a inflamação local foi induzida pela aplicação de óleo de terebintina e as concentrações de IL-6 e PCR séricas foram analisadas. A PCR atingiu seu pico máximo no segundo dia. Como esperado, a injúria induziu maior concentração sérica de IL-6, com aumento significativo para o grupo controle no sexto dia. Foi observado que o aumento de IL-6 precedeu as mudanças nas concentrações séricas de proteína de fase aguda (YAHAMSHITA et al., 1994). Avalia-se também a PCR como marcador de estresse de inflamação sistêmica. Pode-se observar aumento da proteína em diferentes enfermidades e que pode estar correlacionado com a extensão/intensidade da injúria (YAMAMOTO et al., 1993). Um estudo

comparou as concentrações séricas dessa proteína em cadelas submetidas à ovariectomia (OSH) por cirurgias experientes e não experientes. Os autores observaram que a PCR é melhor marcador de estresse do que o cortisol, pois as concentrações desta proteína apresentaram aumento significativo nos cães que foram castrados por cirurgias sem experiência. No entanto, o cortisol não diferiu entre grupos (MICHELSEN et al., 2012). Cadelas submetidas à OSH por dois tipos diferentes de técnicas (laparoscopia ou laparotomia) apresentaram concentrações séricas de PCR distintas. Todavia, a técnica por laparotomia induziu valores maiores, com diferença após 12 horas do procedimento (KJELGAARD-HANSEN et al., 2013).

2.4.4 INTERLEUCINA-10

A IL-10 é uma citocina alfa helicoidal, homodimérica, não covalente. Seus receptores são expressos na superfície da maioria das células hematopoiéticas (OFT, 2014). Possui potente ação anti-inflamatória, sendo considerada uma citocina essencial para a homeostase de células T reguladoras anti-inflamatórias. Em humanos, a IL-10 é detectada 7 horas após a estimulação de monócitos (DE WAAL MALEFYT et al., 1991) e atua na resposta inflamatória por diferentes vias e níveis, através da inibição da transcrição de subunidades de citocinas inflamatórias chave (SMITH et al., 2011), além de suprimir a sinalização dos receptores de citocinas pró-inflamatórias (OFT, 2014).

Ao longo dos anos a ação da IL-10 foi e é estudada na resposta inflamatória e no desenvolvimento do câncer, situações nas quais alterações tanto na citocina em si, como nas unidades de seu receptor, já podem afetar a homeostase desejada. Reconhece-se hoje que a inflamação crônica intestinal é um fator de risco para a ocorrência de malignidades (POHL; HOMBACH; KRUIS, 2000). Estudo demonstrou que dentre dezoito crianças com doença inflamatória intestinal avaliadas, sete apresentavam deficiência no receptor de IL-10. Destas, cinco desenvolveram linfoma de células B difusas, o que demonstra sua possível relação com o desenvolvimento deste tipo de câncer (MAMESSIER et al., 2015). Já ratos com interrupção do gene IL-10 (IL-10^{-/-}) demonstraram ser particularmente sensíveis a tumores de pele com

rápida evolução e com aparecimento precoce de metástase (MUMM et al., 2011). A relação da IL-10 com o desenvolvimento de tumores está diretamente ligada ao fato da citocina aumentar a proliferação de células T CD8+ tumor específica e promover atividade citotóxica nas mesmas, o que aumenta a apresentação de antígenos dentro do tumor (CHEN; ZLOTNIK, 1991; EMMERICH et al., 2012).

2.5 INFLUÊNCIA DAS CITOCINAS NA REGULAÇÃO DA INGESTÃO ALIMENTAR E HOMEOSTASE ENERGÉTICA

O hipotálamo é o centro regulador do apetite, massa muscular e homeostase energética, especificamente o núcleo arqueado (CONE et al., 2001). Nele encontra-se uma subpopulação de neurônios anorexígenos e orexígenos, os quais diminuem e aumentam o apetite, respectivamente. Os neurônios anorexígenos incluem população de neurônios expressores do precursor polipeptídeo pró-opiomelanocortina (POMC) e do neuropeptídeo de transcrição regulada por cocaína e anfetamina (CART- *cocaine and amphetamine regulated transcript*). De forma contrária, a população chave dos neurônios orexígenos é composta por peptídeo agouti relacionado (AgRP- *agouti-related peptide*) e pelo neuropeptídeo Y (NPY) (BURFEIND; MICHAELIS; MARKS, 2016). Ambos neurônios expressores, anorexígeno e orexígenos, podem ser modulados pelas citocinas (MCCUSKER; KELLEY, 2013). Além disso, a presença das citocinas no SNC ativa o fator de liberação de corticotropina (CRF- *corticotropinreleasing factor*), um dos mediadores chave envolvidos na resposta endócrina de estresse. Um número considerável de relatos apontaram a ação do CRF na regulação do apetite e no balanço energético (WOOD et al., 1998; INUI, 1999; PATRA; ARORA, 2012).

Neste contexto, as citocinas pró-inflamatórias participam da instalação do desequilíbrio neuro-hormonal de sinais que regulam o apetite. Estudos estão usando como modelo de inflamação hipotalâmica a exposição dos animais ao lipopolissacarídeo (LPS). Neste exemplo, investigação revelou que a inoculação hipotalâmica de LPS em roedores ativou neurônios POMC e aumentou as concentrações de RNA mensageiro (RNAm) de citocinas pró-inflamatórias, que por sua vez, afetaram de forma negativa o peso corporal e ingestão alimentar dos

animais (SERGEYEV; BROBERGER; HÖKFELT, 2001). Efeito similar foi observado em roedores tratados com TNF- α , os quais apresentaram diminuição da ingestão energética e de massa corporal, com redução drástica de NPY e AgRP (ARRUDA et al., 2010). Outros estudos recentes corroboram tais achados e elucidam a modulação por diferentes vias exercidas pelas citocinas no SNC (AMARAL et al., 2006; ROMANATTO et al., 2007).

2.6 A RELAÇÃO DO PROCESSO CATABÓLICO E AÇÕES MEDIADAS POR CITOCINAS

A produção de citocinas inflamatórias no estado de doença induz alterações no metabolismo de proteínas, lipídeos e carboidratos, no qual ocorre a instalação de um processo catabólico no paciente. A caquexia é caracterizada por perda de massa muscular, com ou sem perda de massa gorda, associada a uma enfermidade de base (EVANS et al., 2013). Trata-se de uma síndrome multifatorial complexa observada em diferentes doenças, incluindo pacientes com câncer (YOSHIDA; DELAFONTAINE, 2015), traumas, após procedimentos cirúrgicos e na sepse, em decorrência à alterações metabólicas por mecanismos similares (BARBER, 2001). Combater a instalação e a progressão da caquexia melhora a qualidade de vida e o tempo de sobrevida. Contudo, pouco ainda se sabe sobre esta condição clínica e intervenções efetivas em cães e gatos (MARTIGNONI; KUNZE; FRIESS, 2003).

O músculo é uma importante fonte de aminoácidos, os quais são utilizados tanto na síntese de proteínas de fase aguda quanto para substratos gliconeogênicos, no ciclo de Krebs (LECKER et al., 2004). Por isso, se torna alvo principal de metabolização em situações de enfermidade. A proteólise ocorre como via preferencial à lipólise quando há neuroinflamação. Além disso, há o desequilíbrio entre síntese e degradação proteica. A mobilização proteica é induzida por diferentes mecanismos que são desencadeados por moléculas catabólicas, como as citocinas. A inflamação do SNC ganha destaque nesse cenário, pois os principais mecanismos moleculares que regulam a síndrome anorexia-caquexia envolvem alterações na neuroquímica do cérebro (JOHNS; STEPHENS; FEARON, 2013).

Citocinas como IL-1 β e TNF- α demonstram ser importantes na iniciação da cascata de sinalização no hipotálamo, o que acarreta mudanças na expressão gênica, síntese proteica e sinalização neuroendócrina (BRAUN, THEODORE; MARKS, 2015). Neste processo, a inflamação central induz a *up*-regulação da via ubiquitina proteassoma (UPP- *ubiquitinproteasomepathway*), esta indicada como a principal causa de perda de massa muscular (JOHNS; STEPHENS; FEARON, 2013). Isso ocorre em consequência à transcrição de componentes metabólicos proteolíticos (GLASS, 2010). Em ratos, a administração intra-cérebro-ventricular de IL-1 β induziu significativo e rápido aumento destes componentes no músculo, perda de massa muscular e alteração na composição corporal, o que elucidou o papel do hipotálamo no catabolismo proteico (BRAUN et al., 2011a). Já em humanos, foi encontrada expressão três vezes maior nas concentrações de mRNA de ubiquitina no músculo abdominal de pacientes com diferentes tipos de câncer, submetidos a cirurgia, quando comparados a indivíduos com outras enfermidades (WILLIAMS et al., 1999). Evidências também sugerem que a IL-6 esteja envolvida no desenvolvimento da caquexia do câncer. Em modelo experimental de ratos com adenocarcinoma, maiores concentrações de IL-6 foram correlacionadas com o aparecimento de caquexia e, a utilização de anticorpos neutralizantes da citocina atenuaram a perda de peso (STRASSMANN et al., 1992).

Outro fator influenciador para a ocorrência destas modificações metabólicas é a ação das citocinas inflamatórias na inibição do fator de crescimento insulina-*like* 1 (IGF-1- *insulin-like growth factor-1*), potente estimulador da produção do músculo esquelético (BENNANI-BAITI; DAVIS, 2008). Este fato demonstra a relevância da inter-relação entre hormônios catabólicos e anabólicos. O IGF-1 regula a hipertrofia do músculo esquelético por meio da estimulação de vias específicas de transcrição e inibe a atrofia muscular pela inativação da atividade dos genes ativados da via UPP (BODINE et al., 2001). Em particular, o TNF- α induz resistência aos efeitos anabólicos do IGF-1 (BROUSSARD et al., 2003). Em ratos em estado catabólico, foi encontrada correlação inversa de RNAm, TNF- α e IL-1 β com concentrações de RNAm IGF-1 no músculo esquelético (SCHULZE; MÖBIUS-WINKLER, 2003).

Desta forma, a mobilização crônica de massa muscular observada na caquexia em consequência da resposta inflamatória sistêmica crônica acarreta atrofia muscular, que por sua vez, pode levar ao comprometimento funcional dos órgãos (BURFEIND; MICHAELIS; MARKS, 2015). Clinicamente, a atrofia muscular é

de extrema importância, pois é considerada fator prognóstico para pacientes com câncer, além de afetar a resposta à quimioterapia. Em cadelas com tumor de mama, foi verificado que a maior expressão gênica de IL-6 e TNF- α está associada ao pior prognóstico e, especificamente, há correlação inversa entre o TNF- α com o tempo de sobrevivência. Em contrapartida, maior expressão de IL-10 foi relacionada com melhor prognóstico, o que reforça o uso das citocinas como possíveis marcadores de prognóstico (MARTINS et al., 2016).

Apesar da perda de tecido adiposo não ser uma condição necessária para que o paciente seja diagnosticado com a caquexia, a mobilização de lipídeos ocorre antes da perda de peso ser observada. Nesse contexto, há desequilíbrio entre síntese e consumo de lipídeos. O TNF- α e IL-1 diminuem a lipogênese pela inibição de inúmeros genes lipogênicos, dentre eles, o gene da lipoproteína lipase (LPL) (BERG; FRAKER; ALEXANDER, 1994; GAGNE; WAKSHLAG, 2015). Em conjunto, pacientes humanos com câncer apresentaram maior *turnover* de glicerol e ácidos graxos em consequência à produção e ação do fator mobilizador de lipídeos (ALLAN et al., 1987; HIRAI et al., 1998), alterações estas que refletem no aumento da lipólise e diminuição da lipogênese.

2.7 MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO CORPORAL

Existem inúmeras técnicas para determinação da composição corporal, as quais podem ser classificadas como métodos diretos ou indiretos de mensuração. O custo, treinamento específico necessário e a periculosidade são fatores que devem ser considerados na escolha do método a ser aplicado (GONZALEZ et al., 2009).

O método de diluição de isótopos é uma técnica de mensuração em nível molecular. Em crianças e mulheres grávidas, a molécula comumente utilizada é o Deutério (D_2O), um isótopo de hidrogênio estável e não reativo (GONZALEZ et al., 2009). A diluição de deutério envolve o enriquecimento da água corporal com o hidrogênio marcado, seguido pela determinação da concentração de D_2O no fluido fisiológico, como o soro, por exemplo, em espectrometria de massa (WONG; LEE; KLEIN, 1987). A solução de deutério deve ser inoculada por via subcutânea (SC) e amostras de sangue são coletadas minutos antes e após duas horas à inoculação.

Pela diferença obtida entre as concentrações do isótopo, pode-se calcular a água corporal total (ACT) e, a partir desta, é possível calcular a massa corporal magra (MCM) e gordura corporal total (GCT) pelas equações: $MCM = ACT/0,73$ e $GCT = \text{Peso} - MCM$ (GONZALEZ et al., 2009; ZANGHI et al., 2013). Alguns pontos devem ser ressaltados e considerados para a utilização deste método. O primeiro deles é o fato da hidratação interferir na mensuração, uma vez que estados mórbidos podem influenciar na perda ou ganho de líquidos. Sendo assim, não é o método de escolha para verificação da composição corporal em casos de doença ou desnutrição (GONZALEZ et al., 2009). Em gatos saudáveis, observou-se que a determinação da ACT pelo método de ressonância magnética quantitativa subestimou esse valor em 1,4%, quando comparado com o deutério; contudo, foi observada boa correlação entre os métodos. O mesmo se aplica quando foram comparadas a MCM e GCT estimadas pelos dois métodos (ZANGHI et al., 2013).

A avaliação da MCM é um importante passo para a avaliação nutricional, principalmente em casos de estresse metabólico, já que sua quantidade é determinada pela interação de hormônios anabólicos e catabólicos. Para melhor análise da MCM, outros exames podem ser usados em associação, como hematócrito, hemoglobina, proteínas totais, albumina, proteínas de fase aguda (PCR), indicadores estes que variam em sensibilidade e especificidade. Em especial, a albumina é uma das variáveis utilizadas como prognóstico (BOTTONI et al., 2009).

2.8 RESPOSTA INFLAMATÓRIA EM PACIENTES NO PÓS-CIRÚRGICO

Após a injúria inicial, seja ela em circunstâncias controladas, como em cirurgias, ou não controladas, como trauma, sempre há o estabelecimento do estado inflamatório (KOHL; DEUTSCHMAN, 2006). Nesse processo, há um fino balanço entre os benefícios da inflamação e o desenvolvimento de resposta inflamatória exacerbada (GIANNOUDIS, 2003). A resposta imune, inflamatória e metabólica adequada pode ser dividida em duas fases. A primeira fase, denominada de “ebb”, representa resposta para imediata sobrevivência, caracterizada por vasoconstrição e

redirecionamento do sangue para órgãos alvos, com redução do gasto energético. A transição para a segunda fase, chamada “*flow*”, é caracterizada pela presença de sinais que indicam sobrevivência e esta etapa é comumente intitulada de hipermetabolismo (KOHL; DEUTSCHMAN, 2006).

O período hipermetabólico pode variar de intensidade, dependendo do tipo de injúria, mas isso não afeta as fases que o constituem, com algumas exceções. O hipermetabolismo reflete em aumento do gasto energético e da atividade de leucócitos. Como ocorre demanda constante de glicose, sua síntese por outras vias se faz necessária. O catabolismo do músculo esquelético e visceral ocorre com o objetivo de disponibilizar proteína e aminoácidos na circulação para viabilizar a ocorrência de vias metabólicas que resultem na produção de glicose (KOHL; DEUTSCHMAN, 2006). Esse estado catabólico, além de ser causado em consequência do estímulo neuroendócrino, é resultado da ação de mediadores locais como parte da resposta ao estresse que induzem resistência insulínica; hiperglicemia; aumento da lipólise; aumento da proteólise (SAKER; REMILLARD, 2010; GAGNE; WAKSHLAG, 2015); aumento da frequência e amplitude da respiração para excretar dióxido de carbono e entregar oxigênio; aumento da força de contração do miocárdio para manter perfusão em músculos e locais de reparação tecidual e garantir oferta de substratos; aumento do fluxo renal para aumentar a filtração glomerular com o objetivo de eliminar subprodutos oriundos da mobilização de aminoácidos (KOHL; DEUTSCHMAN, 2006). A transição do catabolismo para o anabolismo pode estar relacionada com a cicatrização da ferida. Uma vez instalado um mecanismo para fornecimento de substrato para o local lesionado, a demanda por gliconeogênese diminui, cessa-se a vasodilatação e há redução no catabolismo (KOHL; DEUTSCHMAN, 2006).

Contudo, uma das anormalidades mais comumente observada em pacientes humanos cirúrgicos ou traumatizados é a persistência do hipermetabolismo. Intervenções cirúrgicas extensas são associadas com complicações severas que podem levar à síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SRIS), o qual é o principal fator que induz desfechos fatais no pós-operatório. Outros fatores de risco são associados à SRIS como inadequada ressuscitação, infecção, câncer e má nutrição (KOHL; DEUTSCHMAN, 2006). Quando esse quadro inflamatório se perpetua e há resposta imuno-inflamatória descontrolada, o paciente pode desenvolver falência múltipla de órgãos (FMO) ou síndrome do desconforto

respiratório. A ativação de leucócitos, com consequente liberação de fatores citotóxicos podem causar necrose e inflamação dos órgãos, considerado como um dos eventos chave para o desenvolvimento da FMO (GIANNOUDIS, 2003). Com isso, a regulação da resposta imune tem importante papel no controle da evolução do quadro clínico (WEISS et al., 2002).

Em casos de SIRS ou sepse, há aumento na síntese dos metabólitos do AA e, consequentemente, de seus efeitos na microcirculação e na resposta inflamatória inata (WEISS et al., 2002). Os ácidos graxos Ω -3 tem sido empregados no suporte nutricional de pacientes em pós-cirúrgico com o objetivo de amenizar a resposta inflamatória exacerbada. Os possíveis efeitos desta modulação tem sido foco de muitas pesquisas para intervenção clínica em pessoas. Um estudo de meta análise sugeriu associação entre maiores taxas de complicações quando utilizado infusão de emulsão lipídica cujo componente principal era PUFA Ω -6 em pacientes humanos em estado crítico (CALDER, 2006). Weiss et al. (2002) demonstraram que a média do tempo de internação na UTI e da hospitalização total em pacientes humanos doentes graves foi menor com a suplementação parenteral de Ω -3 pré-operatória (WEISS et al., 2002). A administração de solução parenteral enriquecida com Ω -3 durante cinco dias resultou em maior concentração plasmática de EPA em pessoas hospitalizadas (WICHMANN et al., 2007).

Na Medicina Veterinária, os benefícios da utilização do Ω -3 foram relatados em animais com diferentes enfermidades (BROWN et al., 1998a; SMITH et al., 2007; VANDEWEERD et al., 2012) e no processo de cicatrização de feridas (MOONEY et al., 1998). O fornecimento de dieta suplementada com Ω -3 e arginina para 32 cães com linfoma, tratados com doxorrubicina, promoveu o aumento sérico de EPA/DHA e arginina e, ao mesmo tempo, redução significativa de AA após três semanas de ingestão. O emprego da dieta com maiores concentrações de Ω -3 e arginina resultou em maior tempo de sobrevida dos cães em estágio III da doença. Contudo, não houve diferenças nas concentrações séricas de IL-6 e TNF- α (OGILVIE et al., 2000).

2.8.1 SUPORTE NUTRICIONAL DO PACIENTE EM ESTADO CRÍTICO

Animais no pós-cirúrgico ou doentes graves podem apresentar má nutrição devido à inadequada ingestão calórico-proteica, o que poderá afetar de forma direta a sua imunocompetência, reparação e síntese tecidual e metabolização de fármacos (SAKER; REMILLARD, 2010). Desta forma, o suporte nutricional preconizado nestas circunstâncias é tradicionalmente relacionado ao fornecimento de substratos que atendam a demanda energética e que suportem a reparação tecidual em processos que ajudem a prevenir a perda de massa muscular (CALDER, 2003).

Conforme já discutido, inúmeras alterações metabólicas sistêmicas ocorrem simultaneamente, as quais diferem de uma simples inanição e podem culminar em caquexia e hipermetabolismo. Em cães com câncer, além de todas as alterações clínicas promovidas pela neoplasia, podem ocorrer alterações metabólicas inerentes a presença do tumor em si, as quais contribuem para a caquexia (CASE et al., 2011b). Para rápida produção energética, as células tumorais adquirem adenosina trifosfato (ATP) por meio de glicólise, independente da presença ou ausência de oxigênio, mesmo este processo sendo de baixa conversão energética. Essa modificação na via de obtenção de glicose é denominada de *Efeito Warburg*. Além disso, o lactato produzido como um dos produtos finais desta via deve ser convertido no fígado à glicose pelo Ciclo de Cori, o que induz gasto energético adicional (OTTO; GARBER, 2004; LÓPEZ-LÁZARO, 2008).

Deste modo, preconiza-se que a distribuição energética enfatize calorias oriundas de gordura e proteína à carboidratos, devido a maior habilidade das células neoplásicas em utilizar esta última fonte de energia (CASE et al., 2011b). A dieta deve ser considerada sempre de maneira específica para cada animal, entretanto, considerando um cão com neoplasia e com seu fígado e rins funcionais, o teor de proteína deve ser maior que a indicada para cães em manutenção. Recomenda-se de que 30% a 35% das calorias do alimento devam ser originadas de proteínas, além de alto teor de gordura e reduzido conteúdo de carboidratos (MAULDIN, 2012). Outros autores são mais específicos e recomendam 30% a 40% de proteína na matéria seca (MS), 25% a 40% de gordura e não mais do que 25% de carboidratos (SAKER; SELTING, 2010). Adicionalmente, deve-se considerar que pacientes em estado crítico ou com câncer podem estar imuno comprometidos, o que pode afetar a resistência à infecções (CALDER, 2003). Com isso, objetiva-se também ofertar substratos que tenham impacto positivo tanto no sistema imunológico como na modulação da inflamação.

3. HIPÓTESE

A hipótese principal deste estudo é de que o emprego de um alimento com maior teor de proteína e gordura e maior concentração de ácidos graxos poli-insaturados Ω -3 resultará na inversão da relação de citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias, com manutenção do status nutricional e retardo da perda de tecido adiposo e massa magra corporal.

OBJETIVOS

3.1 PRINCIPAL

Avaliar os efeitos de um alimento com alto teor proteico, lipídico e de ácidos graxos poli-insaturados Ω -3 no status nutricional, status inflamatório e composição corporal de cães em hipermetabolismo.

3.2 SECUNDÁRIOS

- Avaliar parâmetros de coagulação e resposta imunológica de cães após a ingestão de alimento com altos teores de ácidos graxos poli-insaturados Ω -3.
- Avaliar a possível correlação entre citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias, proteína C reativa, IGF-1 e composição corporal de cães alimentados com dieta com altos teores de ácidos graxos poli-insaturados Ω -3. .

4. MATERIAL E MÉTODOS

Todos os procedimentos realizados neste estudo foram conduzidos de acordo com os princípios éticos de experimentação animal e aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), assim como pela Comissão de Ética Hospitalar da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ – USP). Além disso, todos os tutores dos animais assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

4.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Foram selecionados doze cães fêmeas acometidas por neoplasia mamária atendidas na rotina do Serviço de Obstetrícia do HOVET/FMVZ-USP. Os animais foram divididos em dois grupos de seis cães e todos passaram por mastectomia unilateral e ovariectomia (OSH) em um único procedimento cirúrgico. O estudo foi conduzido como duplo cego, randomizado, no qual um grupo recebeu alimento extrusado, com moderado teor proteico e lipídico, sem EPA e DHA (grupo A- grupo controle) e para o outro foi fornecido alimento extrusado com alto teor proteico e lipídico e enriquecido com EPA e DHA (grupo B- alimento teste). Os animais consumiram o alimento designado por 51 dias, iniciando sua ingestão 21 dias antes da realização da cirurgia e seu término 30 dias após o procedimento cirúrgico. A ingestão energética diária foi determinada de acordo com a fórmula $95 \times (\text{peso corporal}_{\text{kg}})^{0,75}$ (NRC, 2006).

4.2 SELEÇÃO DOS ANIMAIS

Para participar do estudo, os animais não poderiam ser castrados, tinham que aceitar alimento extrusado; não poderiam ser gestantes; não poderiam ter recebido tratamento com óleo de peixe e/ou anti-inflamatório não esteroide (AINE)

e/ou corticoide por período inferior há 6, 2 e 3 semanas, respectivamente, anterior a sua inclusão (MOREAU et al., 2003). As cadelas deveriam ter entre 1 a 13 anos de idade, apresentar tumor de mama sem sinais de inflamação e ulceração. Não foram incluídos animais que apresentassem doença renal crônica; cirrose hepática, encefalopatia hepática; distúrbios gastrintestinais crônicos; animais alimentados com alimento comercial designado para tratamento dermatológico ou que apresentassem metástase pulmonar na avaliação radiográfica.

4.3 AMOSTRAS DE SANGUE E ANÁLISES LABORATORIAIS

Após jejum alimentar de 12 horas e hídrico de 2 horas, foram colhidas amostras de 10mL de sangue da veia jugular, em diferentes tempos, ao longo do período de avaliação. Os tempos e as análises realizadas em cada momento estão resumidos no quadro 01.

4.3.1 HEMOGRAMAS, DOSAGENS BIOQUÍMICAS SÉRICAS DE ROTINA E GLICEMIA

Estas avaliações foram realizadas no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da FMVZ-USP. Para realização de hemograma, 1mL de sangue foi colocado em tubo com anticoagulante EDTA. A mesma quantidade de sangue foi acondicionada em tubo com fluoreto de sódio para determinação da glicemia. Para as demais avaliações bioquímicas, 2mL de sangue foram dispostos em tubo seco sem anticoagulante para obtenção de soro.

Quadro 1: Descrição das variáveis analisadas nos diferentes momentos do estudo

Tempos/Grupos	Variáveis analisadas							
	Hemograma	FA; ALT; creatinina; uréia; PT; albumina; potássio; triglicérides; colesterol; glicemia	Frutosamina; TTPA; TP	TNF-α; IL-6 e IL-10	Proteína C reativa e IGF-1	Composição corporal	Linfoproliferação	
T-21	Sim		Sim	Sim	Sim			
T0 (A)/	Não				Não	Não	Não	Não
T0 (P)			Sim			Sim		
T1			Não		Sim	Não		
T10	Sim						Não	Sim
T30						Não	Sim	

Legenda: T-21= 21 dias antes da cirurgia; T0(A)= dia da cirurgia antes do procedimento cirúrgico; T0(P)= dia da cirurgia após procedimento cirúrgico; T1= 1 dia após cirurgia; T10= 10 dias após cirurgia; T30= 30 dias após cirurgia; FA= fosfatase alcalina; ALT= alanina aminotransferase; PT= proteína total; TTPA= tempo de tromboplastina parcial ativada; TP= tempo de protrombina; TNF- α = fator de necrose tumoral alfa; IL-6= interleucina 6; IL-10=

4.3.2 PARÂMETROS DE COAGULAÇÃO

Foram depositados 1,8mL de sangue em tubo com citrato de sódio para realização das análises no Laboratório de Hemoterapia do Departamento de Cirurgia da FMVZ-USP. O Tempo de Protrombina foi determinado com auxílio do kit Soluplastin (Weiner ®). O plasma foi colocado em banho-maria a 37° C durante 2 a 3 minutos. Em um tubo de hemólise, 0,2mL de reagente reconstituído contendo tromboplastina de cérebro de coelho, cloreto de cálcio para uma concentração final de 0,0125mol/L e cloreto de sódio para uma concentração final de 0,1mol/L foram pré-incubados a 37°C durante 2 a 3 minutos. A este, foi adicionado 100uL do plasma e, simultaneamente, o cronômetro foi disparado. O tubo foi mantido em banho-maria e próximo de uma fonte de luz. Antes do tempo de coagulação estimado, o tubo foi retirado do banho-maria e o cronômetro interrompido no momento da aparição do coágulo. O tempo médio de coagulação foi determinado em duplicata.

Além disso, o tempo de tromboplastina parcial ativada foi averiguado com o kit APTTestEellágico (Weiner ®). O reagente cloreto de cálcio estável 0,025mol/L foi aquecido previamente em banho-maria a 37°C. A amostra (100uL) foi adicionada em tubo de hemólise juntamente com o reagente de cefalina, com ácido ellágico e o reagente de cloreto de cálcio. O tubo foi mantido em banho-maria por 25 segundos e logo após retirado. O cronômetro foi acionado simultaneamente com a adição da amostra e reagentes e interrompido quando houve a formação do coágulo. O tempo de coagulação foi anotado. Para a quantificação do fibrinogênio, diluições 1:10 foram preparadas com as amostras e o reagente de imidazol 0,05M e, então, alíquotas destas foram pré-aquecidas a 37°C. Nestas, foi adicionado reagente trombina liofilizada e o tempo de formação do coágulo foi registrado. As análises foram realizadas em duplicata e o resultado foi obtido a partir da média dos tempos de coagulação.

4.3.3 CITOCINAS, PROTEÍNA C REATIVA E IGF-1

Para a execução destas análises, 3mL de sangue foram depositados em tubo sem anticoagulante. Na sequência, as amostras foram centrifugadas por 10 minutos a 1000xg e imediatamente as alíquotas obtidas foram armazenadas em eppendorfs em freezer -80°C para posterior análise.

As quantificações de citocinas foram avaliadas por meio do painel MILLIPLEX MAP Canine Cytokines (CCYTOMAG-90K). As amostras e padrões foram incubados em microesfera revestida com anticorpo específico. Após um analito da amostra teste ser capturado, foi introduzido um anticorpo biotinilado de detecção. Essa mistura foi incubada com conjugado Streptavidina – PE para completar a reação de superfície da microesfera. As amostras foram analisadas no equipamento Luminex 200 - Software x Ponent/Analyst versão 4 (Luminex 200, Luminex Corporation, St. Charles, Missouri, EUA).

A proteína C reativa foi avaliada pelo kit Elisa Proteína C - reativa Canina (CYT296). Controle e amostras foram incubadas em poços de microtitulação revestidos com anticorpo policlonal anti- proteína C reativa canina. Após lavagem, o anticorpo policlonal anti proteína C - reativa canina marcado com peroxidase de rábano (HRP - *horseradishperoxidase*) foi adicionado aos poços e incubado com o complexo anticorpo-CRP imobilizado. Após nova lavagem, anticorpo conjugado com HRP reagiu com substrato e tetrametilbenzidina, a qual foi freada pela adição de solução ácida. A absorbância foi lida por espectrometria em comprimento de onda de 450nm. A leitura foi realizada na Leitora Stat Fax modelo 2100 (Awareness Technology, Palm City, Florida, USA) e os cálculos no programa MultiCalc.

A análise de IGF-1 foi realizada por meio do kit ensaio imunoenzimático ligado à enzima para IGF-1 (SEA050Ca). As amostras foram adicionadas à poços da placa de microtitulação, estas revestidas com anticorpo específico para IGF, com um anticorpo conjugado com biotina específico para IGF-1. Em seguida, adicionou-se avidina conjugada com HRP a cada cavidade de microplaca, com posterior incubação. Solução de substrato TMB foi colocada aos poços que continham IGF-1, anticorpo conjugado com biotina e avidina conjugada com enzima apresentaram alteração na cor. A reação enzima-substrato foi terminada pela adição de solução de ácido sulfúrico e a alteração de cor foi medida por espectofotômetro a um

comprimento de onda de $450\text{nm} \pm 10\text{nm}$. A leitura foi realizada na Leitora Stat Fax modelo 2100 (Awareness Technology, Palm City, Florida, USA) e os cálculos no programa MultiCalc. Estas avaliações foram realizadas no laboratório técnico LEAC - São Paulo (SP).

4.3.4 LINFOPROLIFERAÇÃO

Técnica estéril foi utilizada para o isolamento de células periféricas mononucleares a partir de 1mL de sangue heparinizado. Amostra de sangue foi transferida para tubo falcon e adicionado 5mL de solução tampão de lise e centrifugada à $400\times g$ por 5 minutos. Posteriormente, as células foram lavadas com 10mL de PBS e submetidas a nova centrifugação. Após lavadas, foi adicionado 900uL de soro fetal bovino e 100uL de DMSO e o conteúdo foi transferido para tubo criogênico, o qual ficou armazenado em freezer -80°C por 24 horas e, então, armazenado em nitrogênio líquido até análise.

As células foram preparadas em duplicada, com e sem marcação. Para a realização da marcação de linfócitos *in vitro* utilizou-se protocolo de acordo com Quah, Warren e Parrish (2007). A marcação dos linfócitos foi realizada com éster de succinimidilo e diacetato de carboxifluoresceína (CFSE - *succinimidylester of carboxyfluorescein diacetate*) e o método foi diferenciado de acordo com a concentração das células após ressuspensão. Quando a concentração de células estava $\leq 50 \times 10^6$ células/mL, passaram por nova ressuspensão em novo tubo cônico com 1mL de PBS e 5% de soro fetal bovino inativado pelo calor. O tubo foi posicionado na horizontal e foi adicionado 110uL de PBS no topo do tubo. Foi ressuspendido 1,1uL de CFSE de concentração 5mM e, então, o recipiente foi invertido inúmeras vezes. Por sua vez, quando a concentração celular estava entre de 50 a 100×10^6 células/mL, a solução foi ressuspendida com 1mL de CFSE na concentração de 10mM e misturado. Posteriormente à marcação, as células foram incubadas por 5 minutos a temperatura ambiente, protegidos da luz com papel alumínio. Em seguida, as células foram lavadas três vezes com 10mL de PBS e 5% de soro fetal e centrifugados à $300\times g$ por 5 minutos.

O estímulo para proliferação foi adicionado às células marcadas e não marcadas em placa de 96 poços. Foram semeadas por poço 1×10^5 células em 100 uL do meio DMEM completo (100ug/mL penicilina e estreptomicina, 2mM glutamina; 0,1mM 2-mercaptoetanol, 10% soro fetal bovino inativado). Foi adicionado também ao poço 100uL de estímulo diluído em meio DMEM, totalizando, assim, 200uL por poço. Estes foram cultivados por 48 horas para a marcação e proliferação, para serem avaliadas. As análises foram realizadas no Laboratório de Farmacologia do Departamento de Patologia da FMVZ/USP.

4.3.5 COMPOSIÇÃO CORPORAL

A composição corporal foi determinada pelo método de diluição de isótopos de deutério. Inoculou-se por via subcutânea 1mL por kg de peso corporal de solução constituída por deutério ($^2\text{H}_2\text{O}^4$) e solução fisiológica em concentração de 10%. Amostras de sangue foram coletadas 10 minutos antes e 2 horas após à aplicação. Estas foram processadas para extração de soro e dispostas em tubos coletores de plástico, com tampa rosqueável e vedados com parafilme armazenados à -20°C . As análises foram realizadas no Laboratório de Espectrometria de Massa da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, seguindo a metodologia descrita por Ferrieret al. (2001). A partir destas amostras, foi possível a quantificação da água corpórea, e, então, procedeu-se os cálculos de massa gorda e massa magra corpórea.

4.4 DIETAS

Os alimentos extrusados foram produzidos na unidade Fabril da Grand Food Indústria e Comércio Ltda, os quais apresentavam os perfis nutricionais de acordo com a tabela 01. O alimento utilizado no grupo controle era designado para cão adulto em manutenção e não era enriquecido com EPA+DHA, diferentemente do alimento teste utilizado.

O alimento foi entregue ao tutor em sacos individuais laminados devidamente identificados e lacrados para o correto fornecimento. O mesmo foi instruído a armazenar as porções do alimento que o animal não consumisse para o controle da aceitação do produto. Além disso, uma ficha de acompanhamento foi preenchida referente a cada avaliação para acompanhamento do escore fecal, urina, consumo diário e outras alterações as quais o paciente pudesse apresentar.

Tabela 1: Teores nutricionais das dietas empregadas no estudo

Nutriente	Alimento teste		Alimento cão adulto manutenção	
	% MS	g/kg	% MS	g/kg
Proteína	43,66	400	25,5	230
Extrato Etéreo	27,29	250	13,3	120
Fibra Bruta	2,4	22	3,3	30
Matéria Mineral	5,89	54	8,3	75
Cálcio	1,09	10	1,7	16
Fósforo	0,76	7	0,66	8
Ω-6	3,71	34	2,22	20
Ω-3	1,36	12,5	0,27	2,5
Ω-6:Ω-3	-	2,7:1	-	8,0:1
EPA+DHA	1,09	10,9	0	0
Energia metabolizável	4300 kcal/kg		3797 kcal/kg	

4.5 PROTOCOLO DE PROCEDIMENTO ANESTÉSICO- CIRÚRGICO

Foi estabelecido um único cirurgião e equipe anestésica para estudo. Os procedimentos foram realizados no Setor de Obstetrícia do Hospital Veterinário da FMVZ-USP por médicos veterinários cirurgiões do referido departamento.

Os animais selecionados foram submetidos ao procedimento de acordo com protocolo de técnica cirúrgica preconizados pelo setor. As cadelas selecionadas

foram submetidas à mastectomia unilateral e nos casos em que as fêmeas apresentavam formação tumoral em ambas as cadeias mamárias, optou-se pela retirada da cadeia que apresentava neoplasia com características mais avançadas (Figura 01A e 01B).

Utilizou-se como medicação pré-anestésica o fármaco metadona na dose de 0,3mg/kg e a mesma foi administrada para analgesia pós-cirúrgica na dose de 0,2mg/kg. A indução anestésica foi realizada com propofol na dose de 5mg/kg e a manutenção do plano anestésico com isoflurano. No transoperatório, a fluidoterapia foi realizada com a solução de ringer com lactato na taxa de infusão de 5mL/kg/hora e foi administrado fentanil em forma de bólus, na dose de 3mcg/kg, este mantido em infusão contínua na dose de 0,2 a 0,5mcg/kg/minuto. Ao término da cirurgia, para melhor analgesia, cateter flexível estéril foi inserido na ferida cirúrgica para permitir a aplicação local imediatamente e 24 horas depois de bupivacaína, na dose de 1mg/kg diluído em soro fisiológico 0,9% para obtenção de solução na concentração 1:2 (Figura 02A e 02B). O mesmo foi retirado após a segunda aplicação.

A monitoração foi realizada com monitor multiparamétrico modelo Dixtal DX 2020 com ecocardiograma; oximetria de pulso; pressão arterial invasiva em artéria podal/metatársica; ventilometria e delta P; capnógrafo com analisador de gases e ecocardiografia transesofágica. Durante o transoperatório foi avaliado a perda de sangue do paciente para reajuste da infusão de fluido.

Os pacientes ficaram acomodados em seus respectivos domicílios no período pós-cirúrgico com administração de amoxicilina com clavulanato, na dose de 25mg/kg e cloridrato de ranitidina, 2mg/kg, duas vezes ao dia, durante sete dias e cloridrato de tramadol, 5mg/kg, três vezes ao dia, durante cinco dias.

Figura 1: Cadela apresentando múltiplas neoplasias em ambas as cadeias mamárias. A) Antes do procedimento cirúrgico e B) Após o procedimento de mastectomia unilateral.

Figura 2: Cadela apresentando única neoplasia em cadeia mamária esquerda. A) antes do procedimento cirúrgico e B) Após o procedimento de mastectomia unilateral.

4.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para a análise dos resultados, foram empregados diferentes testes estatísticos de acordo com a natureza das variáveis mensuradas. Para a análise das concentrações de TNF, IL-6 e IL-10, o modelo estatístico contemplou os efeitos fixos de dieta (Normal vs. Teste), tempo de avaliação (T-21, T0A, T0P, T10 e T30), interação dieta x tempo, além dos efeitos aleatórios de animal e resíduo. Considerou-se que as avaliações foram realizadas nos mesmos animais, caracterizando estrutura de medidas repetidas nas mesmas unidades experimentais. Para essas variáveis (TNF- α , IL-6 e IL-10) utilizou-se a metodologia de modelos lineares generalizados, pressupondo distribuição residual de *Poisson* e função de ligação logarítmica. Estas análises foram realizadas com auxílio do procedimento PROC GLIMMIX do programa *Statistical Analysis System*, versão 9.3 (SAS, 1995)¹. Para as análises das demais variáveis, as quais apresentaram comportamento de normalidade e homogeneidade de resíduos condicionais, o modelo estatístico contemplou os mesmos efeitos fixos (dieta, tempo e interação dieta x tempo) e aleatórios (animal e resíduo) anteriormente descritos, e, neste caso, foi utilizado o método linear misto geral, por meio do procedimento PROC MIXED do SAS. Para essas variáveis também foi considerado que as avaliações foram realizadas nos

¹ SAS. **USER'S GUIDE: basic and statistic**. Cary,NC: SAS, 1995. 1.686 p.

mesmos animais, caracterizando estrutura de medidas repetidas nas mesmas unidades experimentais. Em caso de efeitos significativos nas análises de variância (ANOVAs), as médias de quadrados mínimos foram comparadas pelo teste de Tukey, por meio da opção AJUSTED=TUKEY, para ambos os procedimentos citados. Para avaliar a possível relação entre as diferentes variáveis, foram realizadas ainda correlações Momento-Produto de *Pearson* por meio do procedimento PROC CORR do SAS.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ANIMAIS

Para a execução do estudo, no total foram incluídas catorze cadelas, das quais duas foram excluídas. Uma delas, devido ao aparecimento de formação neoplásica em cadeia mamária contralateral a da mastectomia, com sinais de inflamação. A paciente demonstrou piora do quadro clínico e optou-se por eutanásia. O outro animal foi devido à administração de corticóide pelo tutor durante o projeto. Por conseguinte, finalizaram o estudo doze cães. Destes, três eram da raça Dachshund, três sem raça definida, um Beagle, um Poodle, um Cocker Spaniel, um Rottweiler, um Labrador Retriever e um Pastor Alemão, com média de idade de $9,3 \pm 3,14$ anos e peso corporal médio de $17,48 \pm 11,71$ kg.

5.2 INGESTÃO ALIMENTAR, STATUS NUTRICIONAL E COMPOSIÇÃO CORPORAL

Todos os cães participantes consumiram entre 80% a 100% da quantidade do alimento prescrito, com exceção de apenas um animal, o qual não apresentou variação de peso nem de ECC e EMM. Os grupos não demonstraram variação significativa no peso corporal ($p=0,99$), ECC ($p=0,95$) e EMM ($p=0,56$) durante o

período de acompanhamento. Quando considerados os grupos individuais, nenhum destes apresentou mudança significativa da ingestão de proteína e gordura/ $\text{kg}^{0,75}$ ao longo do tempo, mas foi possível identificar que o grupo B apresentou maior consumo de proteína e gordura/ $\text{kg}^{0,75}$ comparado ao grupo A ($p = <0,01$), fato esperado já que a dieta teste possui teor cerca de 2,1 vezes maior de gordura e 1,8 vezes maior de proteína. Mesmo efeito foi notado para a ingestão de Ω -6 e Ω -3 por kg de peso metabólico ($p < 0,01$). Não foram observadas diferenças na ingestão energética ($p = 0,6$) e de fibras ($p = 0,40$) entre as dietas. Em relação à ingestão de EPA/DHA, o grupo B apresentou média de consumo de $0,326 \pm 0,120 \text{ g/ kg}^{0,75}$; já no grupo A não houve consumo deste nutriente.

Dietas com altos teores de proteína e gordura e, por consequência, reduzido teor de carboidratos, são indicadas para cães acometidos por neoplasia, pois estes podem apresentar alterações no metabolismo de carboidratos e são mais susceptíveis ao desenvolvimento de caquexia (VAIL et al., 1990; MICHEL; SORENMO; SHOFR, 2004; FREEMAN, 2012). Além disso, há inúmeras alterações endócrinas associadas ao estado de estresse metabólico que contribuem para o estabelecimento do balanço nitrogenado negativo. Todavia, esta fase de hipermetabolismo pode aumentar a demanda energético-proteica devido ao processo de gliconeogênese estabelecido e para adequada resposta imune, com a expansão clonal e produção de citocinas (REMILLARD et al., 2000; BRUNETTO et al., 2007). Deste modo, ressalta-se a importância do emprego de um alimento que promova maior aporte proteico específico para esta fase.

O percentual de massa magra (MM) e gordura corporal (GC) diferiu entre os grupos A e B no T-21 (A vs B: MM= 65,17% vs 80,19%; GC= 34,83% vs 19,80%), período no qual os pacientes ainda não haviam consumido os alimentos experimentais. Ao se avaliar a MM considerando-se o período de tempo total de observação no estudo, foi evidenciado efeito de tratamento, no qual B apresentou maior percentual de massa muscular do que A ($p < 0,01$). Além disso, foi identificado que o grupo B apresentou menor porcentagem de GC que o grupo A ($p < 0,01$). Contudo, quando considerado a interação dieta e tempo, não houve diferença no percentual na MM e GC entre os dois grupos (tabela 2). O mesmo foi observado quando considerado a MM e GC em quilogramas ($p > 0,05$).

A alteração na composição corporal encontrada neste estudo pode ter sido influenciada pela presença do tumor em si, procedimento cirúrgico e pela ação

hormonal decorrente da OSH. Estudos demonstraram que as citocinas pró-inflamatórias são capazes de induzir alterações em vias de catabolismo proteico e lipídico e atuar no centro regulador do apetite em humanos e ratos (WILLIAMS et al., 1999; BENNANI-BAITI; DAVIS, 2008; BRAUN et al., 2011b). Apesar do conhecimento sobre a ação das citocinas pró-inflamatórias no desenvolvimento da caquexia do câncer, poucos estudos avaliaram a composição corporal de pessoas com neoplasias e nenhum estudo com cães até o momento. Pacientes humanos com câncer de pulmão tiveram sua composição corporal avaliada por tomografia computadorizada. Nesta população estudada, revelou-se que apenas 7,5% dos pacientes estavam abaixo do peso e, 47,4% estavam com sobrepeso ou obesos de acordo com o índice de massa corporal. Pelas imagens, foi possível observar depleção muscular em 46,8% dos casos, independente do IMC (BARACOS et al., 2010). Em animais, os trabalhos com composição corporal tendem a ser mais direcionados para avaliação de cães e gatos idosos (HARPER, 1998; SPEAKMAN; VAN ACKER; HARPER, 2003), obesidade (KEALY et al., 2002; GERMAN et al., 2008) e castração (JEUSETTE et al., 2006; BELSITO et al., 2009; VESTER et al., 2009). Jeusette et al. (2006) avaliaram a composição corporal por diluição de isótopos de deutério de cadelas da raça Beagle após ovariectomia submetidas a diferentes manejos alimentares. Nos primeiros seis meses após cirurgia, as cadelas consumiram alimento de manutenção (16% de gordura) e a quantidade era calculada e reajustada para a manutenção do peso corporal. No segundo momento, os animais passaram a consumir dieta com maior teor calórico (20% de gordura) durante quatro meses, em quantidade duas vezes maior do que seria necessário para manutenção do ECC. Após, os animais consumiram o alimento de manutenção de moderado teor de gordura, porém *ad libitum*. Apesar de todos os animais se tornarem obesos/sobrepeso, a quantidade de massa gorda aumentou ao longo do estudo (JEUSETTE et al., 2006). Em gatos após a castração, alimentados *ad libitum*, foi observado aumento da porcentagem de GC (BELSITO et al., 2009).

Figura 3 - Massa muscular média (%) dos cães alimentados com as dietas A e B.

Figura 4 - Gordura corporal média (%) dos cães alimentados com as dietas A e B.

Figura 5 - Concentrações séricas médias de IGF-1 (ng/mL) dos cães alimentados com as dietas A e B.

De forma diferente, o protocolo experimental do presente estudo seguiu a recomendação de alimento em quantidade controlada durante todo o acompanhamento e, se necessário, foi recomendada a realização de ajustes para manutenção do peso inicial do animal ao entrar no projeto. Os pacientes não apresentaram alteração na composição corporal em ambos os grupos (GC: $p=0,47$; MM: $p=0,46$).

A técnica de diluição de isótopos de deutério foi a metodologia utilizada no presente estudo para a determinação da composição corporal, uma vez que esta apresenta boa correlação com o método de absorciometria de raios X de dupla energia (DEXA- *dual-energy X-ray absorptiometry*) (MAWBY et al., 2004). Contudo, outra ferramenta pode ser empregada na rotina para estimar o percentual de gordura do animal. Embora subjetivo, a escala de escore de condição corporal é um método simples, rápido, não invasivo e de baixo custo (LINDER; MUELLER, 2014). Associado a este, a avaliação da condição muscular se faz necessária, especialmente em animais doentes, isso porque apenas a avaliação do peso não é um parâmetro fidedigno (CASTRO et al., 2010). Um estudo demonstrou que gatos com câncer e com ECC abaixo do ideal apresentaram menor tempo de sobrevivência média comparados aos gatos com ECC adequado (BAEZ et al., 2007). No presente trabalho também foi encontrada correlação positiva entre gordura corporal e ECC ($r=0,709$; $p<0,001$). Isto indica que esse parâmetro pode ser utilizado na rotina clínica para avaliação do paciente e ressalta-se sua importância para avaliação prognóstica como relatado anteriormente. Em contrapartida, foi observada correlação negativa entre a porcentagem de MM e EMM ($r= -0,46057$ $p=0,0054$).

Com relação aos parâmetros laboratoriais de rotina e que são utilizados como parâmetros nutricionais, não foi observada nenhuma alteração significativa entre os grupos nos distintos tempos (tabela 2). Quando considerado apenas efeito do tratamento, foi identificado que o grupo B apresentou aumento de linfócitos ($p=0,02$) e de glicemia ($p=0,02$). Vail et al. (1990) relataram que cães com malignidades podem apresentar hiperglicemia devido às alterações no metabolismo de carboidratos em decorrência da presença do tumor, todavia, todos os animais apresentaram os valores dos parâmetros dentro do intervalo de referência.

5.3 CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE CITOCINAS, PROTEINA C REATIVA E IGF-1

As concentrações séricas basais de TNF- α , IL-6 e IL-10, PCR e IGF-1 não diferiram entre os grupos. Apesar de não ter sido observada nenhuma diferença nas concentrações séricas das citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias entre os grupos nos diferentes tempos de avaliação, com exceção da IL-6 no T0A (A vs B: 9,46pg/mL vs 215,51pg/mL), foi detectada diferença dentro de cada grupo ao longo do período. Para a proteína C reativa (PCR) não foi observado efeito da dieta ao longo do tempo, como também não foram observadas diferenças entre dietas; já para IGF-1 foi detectado efeito da dieta, quando não considerado os tempos específicos de consumo (tabela 3).

Os animais do grupo B apresentaram redução significativa de TNF- α após a ingestão do alimento durante três semanas. Imediatamente após o procedimento cirúrgico, esta variável apresentou novamente diminuição, com reestabelecimento da concentração sérica pré-cirúrgica 24 horas após a cirurgia. Houve subsequente diminuição progressiva das concentrações da citocina 10 e 30 dias depois. Em contrapartida, o grupo A apresentou aumento das concentrações de TNF- α após três semanas de ingestão do alimento. No T0P observou-se redução significativa, com manutenção da concentração sérica em 24 horas. Apesar de ter sido verificada atenuação após 10 dias, houve aumento das concentrações de TNF- α 30 dias após cirurgia, não diferindo das concentrações observadas no T0P e T1.

Para IL-6, o grupo B apresentou redução da concentração sérica da citocina no T0A (215,51pg/mL), seguido por outra diminuição no pós-operatório imediato (195,07pg/mL). Contudo, 24 horas depois observou-se aumento das concentrações de IL-6 (226,28pg/mL), com menores médias de concentração em T10 e T30 (74,85pg/mL vs 111,73pg/mL). Foi possível verificar diferença entre grupos no T0A, no qual o grupo B apresentou maior concentração sérica de IL-6. Pode-se ressaltar que para o grupo A, neste específico período de avaliação foi observada a menor média da concentração sérica deste grupo (19,46pg/dL). Nos demais tempos de análise, não houve diferença no T0P, T1 e T10 (72,89pg/mL vs 69,83pg/mL vs 73,65pg/mL), com diminuição apenas em T30 (51,59pg/mL).

Com relação à citocina anti-inflamatória IL-10, no grupo B foi plausível atentar-se para a maior concentração sérica 10 dias após a cirurgia (64,70pg/mL),

diferentemente do que foi encontrado dentro do grupo A, o qual apresentou maior concentração 30 dias após o procedimento (40,69pg/mL). Entretanto, ambos os grupos apresentaram menores concentrações médias de IL-10, 24 horas após trauma (A=17,42pg/mL vs B=36,02pg/mL).

O fato da reação inflamatória sistêmica não ser estimulada apenas por um agente microbiano, mas sim também por injúria tecidual, foi usado como gatilho neste estudo para avaliação da suplementação de EPA/DHA na cascata inflamatória. Eicosanóides estão envolvidos tanto em eventos pró-inflamatórios como anti-inflamatórios e inúmeros estudos avaliaram a modulação da resposta inflamatória correlacionando a proporção do uso de ácidos graxos Ω -6 e EPA/DHA em humanos e animais em diferentes circunstâncias (OGILVIE et al., 2000; SENKAL et al., 2007; HANSEN et al., 2008).

Nossos resultados corroboram os achados de Mayer et al. (2003), no qual a produção de citocinas foi acompanhada em pacientes humanos com sepse em terapia nutricional parenteral com emulsão convencional (com Ω -6) ou com solução enriquecida com Ω -3 (com base em óleo de peixe), durante 5 dias. As concentrações séricas das citocinas TNF- α , IL-6, IL-8 e IL-10 não diferiram entre os grupos. Porém, quando avaliado a secreção de citocinas *ex vivo* por isolamento de leucócitos mononucleares e monócitos estimulados por endotoxina, foi verificada redução da liberação de citocinas pró-inflamatórias em 30% durante a infusão de solução com Ω -3, em contraste com o aumento destas citocinas com a solução de Ω -6. Os autores atribuíram essa diferença de resultado devido ao emprego de diferentes metodologias empregadas entre os estudos e também a outros efeitos que possam alterar a concentração de citocinas na circulação (MAYER et al., 2003). Por sua vez, foi descrito redução de IL-6 no quarto e sétimo dia de infusão de solução parenteral na dose de 0,2g/kg/dia de óleo de peixe e de TNF- α no sétimo dia no pós-operatório de pacientes humanos de unidades intensivas que foram submetidos a cirurgias abdominais (HAN et al., 2012).

Inúmeros são os relatos da utilização da emulsão contendo óleo de peixe na nutrição parenteral de pacientes humanos em estado crítico evidenciando seus benefícios e sua seguridade (HELLER et al., 2002; TSEKOS et al., 2004; HAN et al., 2012). Como há a hipótese de que o fornecimento pré e pós-cirúrgico de ácidos graxos Ω -3 pode promover a melhora clínica, Tskekis et al. (2004) compararam pacientes humanos que foram submetidos a cirurgias abdominais e que receberam

ou nutrição parenteral pós-operatória com emulsão convencional ou emulsão enriquecida com óleo de peixe ou receberam infusão lipídica com Ω -3 pós operatória juntamente com infusão lipídica, na razão Ω -6: Ω -3 de 2-3:1 no período de 2-3 dias pré-cirurgia. A suplementação pré-operatória relatada de 8 a 10 gramas de Ω -3 por dia em curto tempo induziu efeitos positivos, dos quais houve a redução da mortalidade destes pacientes, benefício atribuído ao potencial de modulação de eicosanóides exercido pelos ácidos graxos da família Ω -3 (TSEKOS et al., 2004). Parte dos efeitos imunoestimulantes do óleo de peixe foram identificados em pacientes também submetidos às cirurgias abominais após a infusão parenteral enriquecida, nos quais foram detectados a amplificação de proteínas de fase aguda positivas do fígado mensurada por meio de métodos de biologia molecular. Apesar de ser observado aumento em sua concentração após o período de 5 dias de infusão, não foi encontrada diferença (HELLER et al., 2004), de forma semelhante, o presente estudo não encontrou efeito da ingestão da dieta com maior teor de ácidos graxos Ω -3 nas concentrações circulantes de PCR. Deve-se ressaltar que a PCR é necessária para o processo de reparação inicial, porém quando está presente em quantidades ou períodos inadequados ela pode se tornar parte do patomecanismo e induzir desfecho desfavorável (HELLER et al., 2004).

Em cães, diversos estudos focaram nos efeitos benéficos decorrentes do potencial imunomodulatório do óleo de peixe em animais saudáveis (LEBLANC et al., 2008; HESTA et al., 2012), pacientes cardiopatas (FREEMAN et al., 1998; MAYYAS et al., 2011), nefropatas (BROWN et al., 1998b, 2000), com dermatopatias (MUELLER et al., 2004) e com osteoartrite (FRITSCH et al., 2010; ROUSH et al., 2010). Em cães saudáveis, a alimentação durante o período de 12 dias com dieta contendo 1,75 gramas de EPA/kg de alimento na MS e 2,2 gramas de DHA/kg de alimento na MS e razão Ω -6: Ω -3 de 3,4:1 foi associada a menor atividade total de IL-6 no período de 6 horas após o estímulo com lipopolissacarídeo, em comparação aos cães que faziam uso de dieta com óleo de girassol. Entretanto, a dieta teste não foi capaz de resultar em diferença de atividade do TNF- α entre os grupos, resultado este que respalda os achados de TNF- α neste presente estudo (LEBLANC et al., 2008). Já Mayas et al. (2010) verificaram que o fornecimento prévio de 0,6g de Ω -3/kg de peso corporal/dia, durante 3 semanas antes da cirurgia cardíaca em cães foi eficiente em reduzir a razão Ω -6: Ω -3 do músculo cardíaco (134:1 vs 4:1), o que limitou a inflamação atrial devido à atenuação da produção de prostanoídes com

maior potencial inflamatório. Contudo, quando analisadas as concentrações de PCR plasmática, os grupos suplementados e controle apresentaram valores similares (MAYYAS et al., 2011). Estes corroboram os efeitos observados no presente estudo, no qual a PCR não foi influenciada pela dieta enriquecida com EPA/DHA.

Cadelas com piometra que foram submetidas à ovariectomia (OSH) apresentaram maior concentração de PCR tanto pré como pós-procedimento, quando comparadas com cadelas saudáveis submetidas ao mesmo processo. Além disso, estas demonstraram aumento significativo de IGF-1 do terceiro para o décimo dia do pós-cirúrgico, em contraste com o grupo controle, que não apresentou mudanças na concentração ao longo do estudo (DA et al., 2015). No presente trabalho, mesmo que não tenha sido encontrado diferenças quando considerado dieta e tempo entre os grupos, o grupo B apresentou aumento de IGF-1 do T0P para T1, enquanto efeito oposto foi identificado no grupo A (T0P A vs B: 2,08ng/mL vs 4,59ng/mL T1 A vs B: 1,66ng/mL vs 6,23ng/mL). Porém, ao se considerar o efeito da dieta independente de tempo, foi identificado que o grupo B apresentou maior concentração sérica de IGF-1 [($p=0,0357$); dieta A: 1,69ng/mL; dieta B: 6,16ng/mL]. Acredita-se que devido ao curto tempo do estudo não foi possível verificar diferenças dentre os tempos analisados. O IGF-1 é um potente indutor de síntese proteica nos mioblastos e o TNF- α é postulado como um dos responsáveis por perda de massa muscular em condições patofisiológicas (FROST et al., 2015). A partir deste princípio, foi verificado que a ação de inibição do TNF- α sobre a inibição do IGF-1 é dose dependente em mioblastos de humanos e suínos (BROUSSARD et al., 2003; FROST et al., 2015). Não foi encontrado nenhum estudo específico que relatasse a influência dos PUFA no comportamento do IGF-1 em pessoas, ratos ou cães.

O modelo utilizado para o atual estudo da influência do EPA e DHA no perfil inflamatório abrange tanto o trauma em si pelo procedimento cirúrgico como uma enfermidade que induz a produção de citocinas pró-inflamatórias, o que leva o animal a apresentar estado inflamatório. Evidências sugerem a atuação de citocinas no aparecimento, crescimento e metástase do tumor (YOO; LEE; YOO, 2009). Relata-se que as interleucinas possuem papel importante no câncer como potentes moduladores da angiogênese e infiltração leucocitária. Foi constatado que cães com câncer mamário inflamatório apresentavam maiores concentrações séricas de IL-6 quando comparadas com cadelas saudáveis e concentrações de IL-10 maiores quando comparadas tanto à cadelas saudáveis quando a cadelas acometidas por

tumores malignos mamários não inflamatórios (DE ANDRÉS et al., 2013). Estrela-Lima et al. (2013) verificaram que cadelas que apresentavam carcinoma em tumores mistos benignos mamários com metástase ou com carcinoma mamário com metástase expressavam alta produção de IL-10 (ESTRELA-LIMA et al., 2016). Esta informação contrapõe os possíveis efeitos imunodepressivos e anti-inflamatórios descritos da IL-10 (PESTKA et al., 2004), dos quais também podemos citar o modelamento da apoptose e redução da angiogênese em casos de regressão (KUNDU; FULTON, 1997) e como fator prognóstico benéfico no câncer de mama (MARTINS et al., 2016). No presente estudo, apesar de não ter sido observada diferença das concentrações de IL-10, as médias apresentadas no grupo B foram maiores no T0P (A vs B: 24,01pg/mL vs 42,09pg/mL), T1 (A vs B: 17,42pg/mL vs 36,02pg/mL) e T10 (A vs B: 32,02pg/mL vs 64,70pg/mL). Em estudo com cães portadores de linfoma estágio III ou IV, Ogilvie et al. (2000) verificaram a ação do ácido graxo Ω -3 nas concentrações de TNF- α e IL-6 em pacientes submetidos a cinco sessões de quimioterapia (12 semanas de acompanhamento). Os pacientes consumiam dieta experimental suplementada com óleo de peixe (Ω -6= 23g/kg MS; Ω -3= 73g/kg MS; Ω -6: Ω -3= 0,3:1) ou dieta controle suplementada com óleo de soja (Ω -6= 125g/kg MS; Ω -3= 16g/kg MS; Ω -6: Ω -3= 7,7:1). Os autores não observaram diferença nas concentrações séricas de TNF- α entre grupos. No entanto, para a IL-6, foi possível observar redução em ambos os grupos (OGILVIE et al., 2000). Estes resultados corroboram os achados séricos de citocinas pró-inflamatórias verificados no presente estudo, mesmo que este tenha ocorrido por menor período de tempo (7 semanas) e que a razão Ω -6: Ω -3 utilizada na dieta teste seja maior.

Figura 6 – Concentrações séricas médias de fator de necrose tumoral alfa (pg/mL) dos cães alimentados com as dietas A e B.

Figura 7 – Concentrações séricas médias de interleucina-6 (pg/mL) dos cães alimentados com as dietas A e B.

Figura 8 – Concentrações séricas médias de interleucina 10 (pg/mL) de cães alimentados com as dietas A e B.

Figura 9 – Concentrações séricas médias de proteína C reativa (ng/mL) de cães alimentados com as dietas A e B.

5.4 PARÂMETROS DE COAGULAÇÃO ROTINEIROS

Os parâmetros de TP, TPPA, fibrinogênio e plaquetas não diferiram entre os grupos no início do estudo e não houve diferença entre os grupos ao longo do estudo nos demais tempos de avaliação (tabela 4). As modificações das proporções dietéticas Ω -6: Ω -3 resultam em alteração na composição de ácidos graxos da membrana fosfolipídica, com a diminuição de AA. O AA é precursor para a síntese de tromboxano A₂, esse considerado essencial para a normal função plaquetária (THOMASON et al., 2011). Por sua vez, EPA e DHA levam a síntese de tromboxano A₃, o qual apresenta menor potencial de ativação das plaquetas. Desta maneira, a ativação plaquetária pode ser afetada devido a alterações na produção de eicosanóides (LENOX; BAUER, 2013).

Os efeitos do Ω -3 na coagulação sanguínea foram mencionados tanto em cães como em gatos. Gatos alimentados com dieta isonutriente enriquecida com Ω -3 (Ω -6: Ω -3= 1,3:1) durante 16 semanas apresentaram maior tempo de coagulação e menor pico de agregação plaquetária, quando comparados com gatos manejados com dieta enriquecida de Ω -6 (Ω -6: Ω -3= 25:1) e dieta controle (Ω -6: Ω -3= 12:1); contudo, não houve diferença entre os grupos para as mensurações de TP e TPPA (SAKER et al., 1998). Cães com linfoma ou hemangiossarcoma foram designados para consumir alimentos isocalóricos com arginina que diferiam entre si pela razão Ω -6: Ω -3 (EPA 0,1 g/kg dieta MS; DHA 0,2g/kg dieta MS, total Ω -3 16g/kg dieta MS, Ω -6: Ω -3 = 7,7:1 vs EPA 29g/kg dieta MS, DHA 24g/kg dieta MS, total n-3 73g/kg dieta MS, Ω -6: Ω -3= 0,3:1). Nos animais acometidos por linfoma, não foi observado redução na contagem de plaquetas entre grupos. Alterações significativas entre grupos com relação à TP e TPPA não foram evidenciadas nem cães com linfoma e com hemangiossarcoma (MCNIEL et al., 2009). Boudreaux et al. (1997) forneceram à cães da raça beagle dietas com diferentes concentrações Ω -6: Ω -3 durante 12 semanas, no qual a dieta com menor razão continha Ω -6: Ω -3 de 5:1. Os autores não evidenciaram reatividade plaquetária e alterações nas concentrações de fibrinogênio. Em humanos, não foram observadas diferenças em TP, TPPA e plaquetas ao longo de 5 dias de pós-operatório entre grupos que receberam infusão parenteral associada ou não com suplementação de Ω -3 (0,2g óleo de peixe/kg/dia)

(HELLER et al., 2002). Estes resultados em humanos e animais pautam os achados do presente estudo, já previamente relatados.

5.5 LINFOPROLIFERAÇÃO

Estudos em humanos e roedores indicam que a suplementação com ácidos graxos Ω -3 podem suprimir a proliferação e função dos linfócitos, fato que pode estar relacionado à diminuição da síntese de citocinas pró-inflamatórias que promovem a proliferação e diferenciação dos diversos tipos de linfócitos (MEYDANI et al., 1991; CALDER; NEWSHOLME E., 1992; TERADA et al., 2001; LEBLANC, 2003). No atual estudo, apesar de não terem sido verificadas diferenças nas concentrações de TNF- α e IL-6 entre os grupos A e B nos diferentes tempos, foi possível constatar comportamentos diferentes entre dietas. Todavia, não foi possível observar diferenças na porcentagem de proliferação de linfócitos entre os grupos quando avaliou-se a influência das dietas ($p=0,79$), tempo ($p=0,58$) ou interação entre dieta e tempo ($p=0,98$) no período de acompanhamento (figura 10). Não houve diferença entre os grupos no T-21, momento em que os animais iniciaram a alimentação específica do estudo.

De forma contrária, LeBlanc (2003) avaliou três suplementações distintas em cães saudáveis (grupo 1: Ω -6 total= 16,6g/d; Ω -3 total= 0,69g/d; EPA= <0,1g/d; DHA= <0,1g/d; Ω -6: Ω -3= 23,98 vs grupo 2: Ω -6 total= 10,2g/d; Ω -3 total= 2,98g/d; EPA= 0,75g/d; DHA= 0,15g/d; Ω -6: Ω -3=3,4 vs grupo 3: dieta grupo 2 + vitamina E= 196,6 UI/d). O autor encontrou redução na porcentagem de linfoproliferação, quando analisados por citometria de fluxo, após doze semanas, em todos os grupos. Entretanto, quando estes resultados foram expressos em números de pico, o grupo manejado com a dieta enriquecida apenas com Ω -3 apresentou redução na proliferação na décima segunda semana. Em contrapartida, em cães idosos que ingeriram dieta com razão Ω -6: Ω -3 5:1 durante 60 dias, não houve alteração na resposta mitogênica. Contudo, quando estas foram comparadas às respostas mitogênicas de cães jovens, foi identificado que os cães idosos exibiram resposta mitogênica menor. Neste mesmo estudo, apontou-se que não houve diferença na produção de TNF- α , IL-1 e IL-6 por macrófagos peritoneais e células periféricas

mononucleares (KEARNS et al., 1999). A proliferação de linfócitos T também foi analisada em cultura de esplenócitos oriundos de ratos alimentados com dietas purificadas contendo AA (10g/kg de alimento) ou EPA (10g/kg de alimento) ou DHA (10g/kg de alimento) durante 10 dias. Animais de ambos os grupos após a ingestão de EPA ou DHA manifestaram redução na linfoproliferação, quando comparados ao grupo que recebeu AA. Em paralelo, foi possível determinar a produção de IL-2, no qual observou-se supressão nos grupos EPA e DHA (JOLLY et al., 1997). No presente estudo não houve correlação entre $\text{TNF-}\alpha$ ($p=0,08$) ou IL-6 ($p=0,08$) com a porcentagem de linfoproliferação.

Outra hipótese para a redução da linfoproliferação em pacientes alimentados com dietas altas em Ω -3 está relacionada com a produção de peróxidos lipídicos e consequente dano oxidativo na membrana celular (MEYDANI et al., 1991; KUMAR et al., 1992); porém esta hipótese não foi verificada neste estudo.

Figura 10- Linfoproliferação (%) dos cães alimentados com as dietas A e B

5.6 PARTICULARIDADES DO ESTUDO E SUAS LIMITAÇÕES

O estudo pôde englobar inúmeros parâmetros inflamatórios e imunológicos passíveis de sofrerem influência da suplementação com ácidos graxos Ω -3. Apesar das dietas testadas não serem isonutrientes e isocalóricas para a exclusão de outras variáveis que poderiam afetar a imunomodulação, ela retrata a realidade dos alimentos extrusados comerciais disponíveis no mercado, os quais os tutores tem acesso em momentos que o animal necessita de suporte nutricional específico, quando em estado crítico. Desta forma, não foi possível manter a ingestão de Ω -6 igual para ambos os grupos e isto pode ter afetado a resposta inflamatória no grupo que consumia a dieta suplementada com óleo de peixe, mascarando a real ação do Ω -3.

Ademais, por se tratar de uma neoplasia e não ser ético prorrogar a execução da mastectomia, os animais consumiram o alimento por três semanas previamente a cirurgia. Embora estudos indiquem que apenas duas semanas de ingestão de alimento suplementado com óleo de peixe já induza ao aumento de concentrações séricas de EPA e DHA, no nosso estudo não foram reveladas diferenças significativas nos parâmetros imunomodulatórios. Pode-se pensar que animais portadores de doenças crônicas talvez necessitem de maior tempo de ingestão da suplementação para se observar efeitos significativos. Nesse estudo não foram avaliadas as concentrações séricas de EPA e DHA, o que não nos permite afirmar se houve modificações significativas no perfil sanguíneo destes ácidos graxos.

6. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos para este grupo de doze animais, sob o protocolo experimental utilizado, pode-se concluir que o alimento contendo teor de 10,9 gramas/kg de alimento de EPA e DHA, com relação Ω -6: Ω -3 de 2,7:1 não foi capaz de modular as concentrações séricas de TNF- α , IL-6, IL-10, PCR e IGF-1.

Com relação à composição corporal, os resultados sugerem que o alimento foi capaz de manter a porcentagem de massa magra e gordura corporal após o trauma. Ademais, a correlação positiva entre gordura corporal e escore de condição corporal demonstrara que essa escala de avaliação nutricional pode ser utilizada na rotina. Entretanto, novas pesquisas devem ser realizadas a respeito da avaliação de massa muscular, uma vez que foi detectado neste presente estudo uma correlação negativa entre porcentagem de MM e EMM.

Acerca dos parâmetros de coagulação, foi verificado que o consumo de EPA e DHA na concentração testada não foi capaz de promover alterações de coagulação, o que demonstrou ser uma dose segura.

APÊNDICE I

Tabela 2 - Evolução da concentração média das variáveis relacionadas à composição corporal e status nutricional (média $\pm$ erro padrão)

Variáveis	Dieta	T-21	T-10	T-30	P
Hematócrito (%)	A	44,62 $\pm$ 2,87	42,88 $\pm$ 2,87	44,82 $\pm$ 2,87	0,8700
	B	45,65 $\pm$ 2,87	41,57 $\pm$ 2,87	43,00 $\pm$ 2,87	
Hemoglobina (g/dL)	A	15,27 $\pm$ 1,00	14,37 $\pm$ 1,00	14,98 $\pm$ 1,00	0,9799
	B	15,30 $\pm$ 1,00	14,07 $\pm$ 1,00	15,05 $\pm$ 1,00	
Linfócitos (/uL)	A	1464,67 $\pm$ 494,52	1661,67 $\pm$ 494,52	1608,33 $\pm$ 494,52	0,9683
	B	2741,00 $\pm$ 494,52	2811,67 $\pm$ 494,52	2633,33 $\pm$ 494,52	
Proteínas totais (g/dL)	A	6,93 $\pm$ 0,37	6,38 $\pm$ 0,37	6,71 $\pm$ 0,37	0,9197
	B	7,22 $\pm$ 0,37	6,89 $\pm$ 0,37	7,28 $\pm$ 0,37	
Albumina (g/dL)	A	3,64 $\pm$ 0,22	3,29 $\pm$ 0,22	3,43 $\pm$ 0,22	0,6657
	B	3,52 $\pm$ 0,22	2,98 $\pm$ 0,22	3,51 $\pm$ 0,22	
ALT (U/L)	A	42,07 $\pm$ 4,47	32,30 $\pm$ 4,47	29,38 $\pm$ 4,47	0,1202
	B	23,71 $\pm$ 4,47	28,17 $\pm$ 4,47	29,58 $\pm$ 4,47	
FA (U/L)	A	40,52 $\pm$ 7,61	36,60 $\pm$ 7,61	34,03 $\pm$ 7,61	0,9406
	B	50,38 $\pm$ 7,61	45,10 $\pm$ 7,61	38,75 $\pm$ 7,61	
Uréia (mg/dL)	A	33,20 $\pm$ 3,80	31,67 $\pm$ 3,80	30,93 $\pm$ 3,80	0,0361
	B	27,28 ^b $\pm$ 3,80	45,68 ^a $\pm$ 3,80	41,50 ^a $\pm$ 3,80	
Creatinina (mg/dL)	A	0,74 $\pm$ 0,06	0,76 $\pm$ 0,06	0,85 $\pm$ 0,06	0,9779
	B	0,77 $\pm$ 0,06	0,75 $\pm$ 0,06	0,84 $\pm$ 0,06	
Colesterol (mg/dL)	A	253,63 $\pm$ 33,40	254,33 $\pm$ 33,40	236,78 $\pm$ 33,40	0,9440
	B	252,38 $\pm$ 33,40	230,70 $\pm$ 33,40	227,62 $\pm$ 33,40	
Triglicérides (mg/dL)	A	60,22 $\pm$ 13,59	84,22 $\pm$ 13,59	95,17 $\pm$ 13,59	0,0633
	B	74,93 $\pm$ 13,59	56,22 $\pm$ 13,59	42,10 $\pm$ 13,59	

Continuação tabela 2

Tabela 2 - Evolução da concentração média das variáveis relacionadas à composição corporal e status nutricional (média $\pm$ erro padrão)

Variáveis	Dieta	T-21	T-10	T-30	P
Glicose (mg/dL)	A	83,17 $\pm$ 5,84	77,83 $\pm$ 5,84	79,33 $\pm$ 5,84	0,6727
	B	91,50 $\pm$ 5,84	96,57 $\pm$ 5,84	93,17 $\pm$ 5,84	
Potássio (mEq/L)	A	4,93 $\pm$ 0,21	5,16 $\pm$ 0,21	4,91 $\pm$ 0,21	0,4011
	B	4,67 $\pm$ 0,21	4,84 $\pm$ 0,21	5,17 $\pm$ 0,21	
MM (%)	A	65,17 $\pm$ 3,44	68,23 $\pm$ 3,76	71,03 $\pm$ 3,44	0,4649
	B	80,19 $\pm$ 3,44	76,56 $\pm$ 3,44	77,88 $\pm$ 3,44	
Gordura corporal (%)	A	34,83 $\pm$ 3,44	31,76 $\pm$ 3,76	28,96 $\pm$ 3,44	0,4651
	B	19,80 $\pm$ 3,44	23,43 $\pm$ 3,44	22,10 $\pm$ 3,44	

Valor de P acordo com teste ANOVA.

Tabela 3 - Evolução da concentração média das variáveis relacionadas à inflamação em cadelas recebendo dieta A (alimento manutenção) e dieta B (alimento teste) segundo o tempo pré e pós-cirúrgico (média $\pm$ erro padrão)

Variáveis	Dieta	Pré Cirúrgico			Pós Cirúrgico			P
		T-21	T0 pré	T0 pós	T1	T10	T30	
TNF- α (pg/mL)	A	31,99 ^b $\pm$ 21,16	69,34 ^a $\pm$ 45,81	22,33 ^c $\pm$ 14,78	23,46 ^c $\pm$ 15,53	18,65 ^d $\pm$ 12,35	23,52 ^c $\pm$ 15,57	<0,0001
	B	149,79 ^a $\pm$ 98,72	92,33 ^b $\pm$ 60,88	85,45 ^c $\pm$ 56,34	94,81 ^b $\pm$ 62,51	61,89 ^d $\pm$ 40,82	45,64 ^e $\pm$ 30,11	
IL-6 (pg/mL)	A	81,97 ^a $\pm$ 41,31	19,46 ^d $\pm$ 9,88	72,89 ^b $\pm$ 36,74	69,84 ^b $\pm$ 35,21	73,66 ^b $\pm$ 37,13	51,59 ^c $\pm$ 26,03	<0,0001
	B	336,05 ^a $\pm$ 168,97	215,51 ^c $\pm$ 108,38	195,07 ^d $\pm$ 98,11	226,28 ^b $\pm$ 113,79	74,86 ^f $\pm$ 37,69	111,73 ^e $\pm$ 56,22	
IL-10 (pg/mL)	A	29,84 ^b $\pm$ 14,02	29,41 ^b $\pm$ 13,82	24,10 ^c $\pm$ 11,34	17,42 ^d $\pm$ 8,22	32,06 ^b $\pm$ 15,05	40,69 ^a $\pm$ 19,08	<0,0001
	B	45,75 ^b $\pm$ 21,45	37,86 ^{cd} $\pm$ 17,77	42,09 ^{bc} $\pm$ 19,74	36,02 ^d $\pm$ 16,91	64,70 ^a $\pm$ 30,28	36,76 ^{cd} $\pm$ 17,25	
PCR (ng/ml)	A	0,40 ^a $\pm$ 0,01	-	0,42 ^a $\pm$ 0,01	0,41 ^a $\pm$ 0,01	-	-	0,5678
	B	0,41 ^a $\pm$ 0,01	-	0,41 ^a $\pm$ 0,01	0,42 ^a $\pm$ 0,01	-	-	
IGF-1 (ng/ml)	A	1,32 ^a $\pm$ 2,26	-	2,08 ^a $\pm$ 2,26	1,66 ^a $\pm$ 2,26	-	-	0,7018
	B	7,65 ^a $\pm$ 2,26	-	4,59 ^a $\pm$ 2,26	6,23 ^a $\pm$ 2,26	-	-	

Letras diferentes representam diferenças estatísticas na mesma linha, de acordo com teste ANOVA.

Tabela 4 - Evolução da concentração média das variáveis relacionadas aos parâmetros de coagulação de cadelas recebendo dieta A (alimento manutenção) ou B (alimento teste).

Variáveis	Dieta	T-21	T-0 pré	T-10	T-30	P
TP (segundos)	A	7,40 ± 0,77	7,28 ± 0,77	7,35 ± 0,77	7,33 ± 0,77	0,4184
	B	7,43 ± 0,77	7,77 ± 0,77	7,22 ± 0,77	9,55 ± 0,77	
TTPA (segundos)	A	13,73 ± 0,80	12,78 ± 0,80	12,93 ± 0,80	14,37 ± 0,80	0,9919
	B	13,13 ± 0,80	12,63 ± 0,80	12,48 ± 0,80	13,80 ± 0,80	
Fibrinogênio (mg/dL)	A	306,67 ± 26,86	305,50 ± 26,86	310,00 ± 29,42	293,50 ± 26,86	0,7819
	B	310,50 ± 26,86	274,80 ± 29,42	282,50 ± 26,86	242,03 ± 26,86	
Plaquetas (x 10 ³)	A	380,83 ± 71,04	-	530,50 ± 71,04	339,00 ± 71,04	0,8118
	B	432,00 ± 71,04	-	564,67 ± 71,04	460,17 ± 71,04	

Letras diferentes representam diferenças estatísticas na mesma linha, de acordo com teste ANOVA.

REFERÊNCIAS

- ALLAN, L.; MALAYAPPA, J.; H, FLETCHER. STARNES. JR. MURRAY, F. B. Whole body lipid and energy metabolism in the cancer. **Metabolism**, v. 36, n. 10, p. 958–963, 1987.
- ALVES, C. C.; WAITZBERG, D. L. Nutrição e Cicatrização de Feridas. In: **Nutrição Oral, Enteral e Parenteral na Prática Clínica**. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2009. p. 567–582.
- AMARAL, M. E.; BARBUIO, R.; MILANSKI, M.; ROMANATTO, T.; BARBOSA, H. C.; NADRUZ, W.; BERTOLO, M. B.; BOSCHERO, A. C.; SAAD, M. J. A.; FRANCHINI, K. G.; VELLOSO, L. A. Tumor necrosis factor- α activates signal transduction in hypothalamus and modulates the expression of pro-inflammatory proteins and orexigenic/anorexigenic neurotransmitters. **Journal of neurochemistry**, v. 98, n. 1, p. 203–212, 2006.
- ARRUDA, A. P.; MILANSKI, M.; ROMANATTO, T.; SOLON, C.; COOPE, A.; ALBERICI, L. C.; FESTUCCIA, W. T.; HIRABARA, S. M.; ROPELLE, E.; CURI, R.; CARVALHEIRA, J. B.; VERCESI, A. E.; VELLOSO, L. A. Hypothalamic actions of tumor necrosis factor α provide the thermogenic core for the wastage syndrome in cachexia. **Endocrinology**, v. 151, n. 2, p. 683–694, 2010.
- BAEZ, J. L.; MICHEL, K. E.; SORENMO, K.; SHOFR, F. S. A prospective investigation of the prevalence and prognostic significance of weight loss and changes in body condition in feline cancer patients. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 9, n. 5, p. 411–417, 2007.
- BARBER, M. D. Cancer cachexia and its treatment with fish-oil-enriched nutritional supplementation. **Nutrition**, v. 17, n. 9, p. 751–755, 2001.
- BELSITO, K. R.; VESTER, B. M.; KEEL, T.; GRAVES, T. K.; SWANSON, K. S. Impact of ovariectomy and food intake on body composition, physical activity, and adipose gene expression in cats. **Journal of Animal Science**, v. 87, n. 2, p. 594–602, 2009.
- BENNANI-BAITI, N.; DAVIS, M. P. Cytokines and cancer anorexia cachexia syndrome. **The American journal of hospice & palliative care**, v. 25, n. 5, p. 407–411, 2008.
- BERG, M.; FRAKER, D. L.; ALEXANDER, H. R. Characterization of differentiation factor/leukaemia inhibitory factor effect on lipoprotein lipase activity and mRNA in

3T3-L1 adipocytes. **Cytokine**, v. 6, n. 4, p. 425–432, 1994.

BODINE, S. C.; STITT, T. N.; GONZALEZ, M.; KLINE, W. O.; STOVER, G. L.; BAUERLEIN, R.; ZLOTCHENK, E.; SCRIMGEOUR, A.; LAWRENCE, J. C.; GLASS, D. J.; YANCOPOULOS, G. D. Akt/mTOR pathway is a crucial regulator of skeletal muscle hypertrophy and can prevent muscle atrophy in vivo. **Nature Cell Biology**, v. 3, p. 1014–1019, 2001.

BOTTONI, A.; RODRIGUES, R. de C.; BOTTONI, A.; NOGUEIRA, R. J. N. Exames Laboratoriais. In: **Nutrição Oral, Enteral e Parenteral na Prática Clínica**. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2009. p. 421–440.

BOUDREAUX, M. K.; REINHART, G. A.; VAUGHN, D. M.; SPANO, J. S.; MOONEY, M. The effects of varying dietary n-6 to n-3 fatty acid ratios on platelet reactivity, coagulation screening assays, and antithrombin III activity in dogs. **Journal of the American Animal Hospital Association**, 1997.

BRAUN, THEODORE, P.; MARKS, D. . L. The regulation of muscle mass by endogenous glucocorticoids. **Frontiers in Physiology** |, v. 6, p. 1–12, 2015.

BRAUN, T. P.; ZHU, X.; SZUMOWSKI, M.; SCOTT, G. D.; GROSSBERG, A. J.; LEVASSEUR, P. R.; GRAHAM, K.; KHAN, S.; DAMARAJU, S.; COLMERS, W. F.; BARACOS, V. E.; MARKS, D. L. Central nervous system inflammation induces muscle atrophy via activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. **The Journal of experimental medicine**, v. 208, n. 12, p. 2449–63, 2011a. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3256966&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>.

BRAUN, T. P.; ZHU, X.; SZUMOWSKI, M.; SCOTT, G. D.; GROSSBERG, A. J.; LEVASSEUR, P. R.; GRAHAM, K.; KHAN, S.; DAMARAJU, S.; COLMERS, W. F.; BARACOS, V. E.; MARKS, D. L. Central nervous system inflammation induces muscle atrophy via activation of the hypothalamic – pituitary – adrenal axis. v. 208, n. 12, 2011b.

BROUSSARD, S. R.; MCCUSKER, R. H.; NOVAKOFSKI, J. A. N. E.; STRLE, K.; SHEN, W. E. N. H.; JOHNSON, R. W.; FREUND, G. G.; DANTZER, R.; KELLEY, K. W.; B, L. I. S. R.; N, D. E. J. E. Cytokine-Hormone Interactions : Tumor Necrosis Factor α Impairs Biologic Activity and Downstream Activation Signals of the Insulin-Like Growth Factor I Receptor in Myoblasts. **Endocrinology**, v. 144, n. December, p. 2988–2996, 2003.

BROWN, S. A.; BROWN, C. A.; CROWELL, W. a.; BARSANTI, J. a.; ALLEN, T.;

COWELL, C.; FINCO, D. R. Beneficial effects of chronic administration of dietary Ω -3 polyunsaturated fatty acids in dogs with renal insufficiency. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v. 131, n. 5, p. 447–455, 1998a. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022214398901469>>.

BROWN, S. A.; BROWN, C. A.; CROWELL, W. A.; BARSANTI, J. A.; ALLEN, T.; COWELL, C.; FINCO, D. R. Beneficial effects of chronic administration of dietary Ω -3 polyunsaturated fatty acids in dogs with renal insufficiency. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v. 131, n. 5, p. 447–455, 1998b. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022214398901469>>.

BROWN, S. a; BROWN, C. a; CROWELL, W. a; BARSANTI, J. a; KANG, C. W.; ALLEN, T.; COWELL, C.; FINCO, D. R. Effects of dietary polyunsaturated fatty acid supplementation in early renal insufficiency in dogs. **The Journal of laboratory and clinical medicine**, v. 135, n. 3, p. 275–286, 2000.

BRUNETTO, M. A.; GOMES, M. D. O. S.; JEREMIAS, J. T.; OLIVEIRA, L. D.; CARCIOFI, A. C. Imunonutrição: o papel da dieta no restabelecimento das defesas naturais. **Acta Scien Veterinariae**, v. 35, n. 2, p. 230–232, 2007.

BRUNETTO, M. A.; GOMES, M. O. S.; ANDRE, M. R.; TESHIMA, E.; GON??ALVES, K. N. V; PEREIRA, G. T.; FERRAUDO, A. S.; CARCIOFI, A. C. Effects of nutritional support on hospital outcome in dogs and cats. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 20, n. 2, p. 224–231, 2010.

BURFEIND, K. G.; MICHAELIS, K. A.; MARKS, D. L. The central role of hypothalamic inflammation in the acute illness response and cachexia. **Seminars in Cell & Developmental Biology**, v. 54, p. 42–52, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.semcd.2015.10.038>>.

BURFEIND, K.; MICHAELIS, K. A.; MARKS, D. L. The central role of hypothalamic inflammation in the acute illness response and cachexia. **Seminars in cell & developmental biology**, p. 1–11, 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26541482>>.

CALDER, P. C. Long-chain n-3 fatty acids and inflammation: potential application in surgical and trauma patients. **Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas / Sociedade Brasileira de Biofisica ... [et al.]**, v. 36, n. 4, p. 433–446, 2003.

CALDER, P. C. n - 3 Polyunsaturated fatty acids , inflammation , and inflammatory.

The American Journal of Clinical Nutrition, v. 83, p. 1505S–19S, 2006. Disponível em: <<http://ajcn.nutrition.org/content/83/6/S1505.full.pdf+html>>.

CALDER, P. C.; NEWSHOLME E. Polyunsaturated fatty acids suppress human peripheral lymphocyte proliferation and interleukin-2 production. **Clinical science**, v. 82, p. 695–700, 1992.

CASE, L. P.; DARISTOTLE, L.; HAYEK, M. G.; RAASCH, M. F. Nutritionally Responses Dermatoses. In: **Canine and Feline Nutrition: a resource for companion animal professional**. 3. ed. [s.l.] Mosby Elsevier, 2010. p. 381–408.

CASE, L. P.; DARISTOTLE, L.; HAYEK, M. G.; RAASCH, M. F. Fats. In: **Canine and Feline Nutrition: a resource for companion animal professional**. 3. ed. Saint Louis: Mosby Elsevier, 2011a. p. 17–20.

CASE, L. P.; DARISTOTLE, L.; HAYEK, M. G.; RAASCH, M. F. Nutritional Care of Cancer Patient. In: **Canine and Feline Nutrition: a resource for companion animal professional**. 3. ed. Missouri: Mosby Elsevier, 2011b. p. 479–486.

CASTRO, M. C. N. e; SANTOS; VIEIRA, A. B.; SALOMÃO, M. C.; GERSHONY, L. C.; SOARES, A. M. B.; FERREIRA, A. M. R. Escore de condição corporal como indicador do prognóstico de gatos com doença renal crônica. **Ciencia Rural**, v. 40, n. 2, p. 365–370, 2010.

CHAN, D. L. Nutritional requirements of the critically ill patient. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 19, n. 1, p. 1–5, 2004. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1096286703000793>>.

CHAN, D. L. Immune modulatio nutrients in small animals. In: **Nutritional Management of Hospitalized Small Animals**. 1. ed. Oxford: Wiley-Blackwell, 2015. p. 172–182.

CHEN, W. F.; ZLOTNIK, A. IL-10: a novel cytotoxic T cell differentiation factor. **J Immunol**, v. 147, n. 2, p. 528–534, 1991.

CONE, R. D.; COWLEY, M. .; BUTLER, A. .; FAN, W.; MARKS, D. .; LOW, M. . The arcuate nucleus as a conduit for diverse signals relevant to energy homeostasis. **Int J Obes Relat Metab Disord**, v. 25, n. 5, p. S63–S67, 2001.

DA, R.; SZCZUBIA, M.; KOSTRO, K.; CERON, J. J.; TVARIJONAVICIUTE, A. Serum insulin-like growth factor-1 and C-reactive protein concentrations before and after ovariohysterectomy in bitches with pyometra. **Theriogenology**, v. 83, p. 474–477, 2015.

DE ANDRÉS, P. J.; ILLERA, J. C.; CÁCERES, S.; DÍEZ, L.; PÉREZ-ALENZA, M. D.;

PEÑA, L. Increased levels of interleukins 8 and 10 as findings of canine inflammatory mammary cancer. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 152, n. 3–4, p. 245–251, 2013.

DE WAAL MALEFYT, R.; ABRAMS, J.; BENNETT, J.; FIGDOR, C.; DE VRIES, J. . Interleukin 10(IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes. **J Exp Med.**, v. 174, n. 5, p. 1209–1220, 1991.

DENLEY, S. M.; JAMIESON, N. B.; MCCALL, P.; OIEN, K. A.; MORTON, J. P.; CARTER, C. R.; EDWARDS, J.; MCKAY, C. J. Activation of the IL-6R/Jak/Stat Pathway is Associated with a Poor Outcome in Resected Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. **Journal of Gastrointestinal Surgery**, v. 17, n. 5, p. 887–898, 2013.

EMMERICH, J.; MUMM, J. B.; CHAN, I. H.; LAFACE, D.; TRUONG, H.; MCCLANAHAN, T.; GORMAN, D. M.; OFT, M. IL-10 directly activates and expands tumor-resident CD8(+) T cells without de novo infiltration from secondary lymphoid organs. **Cancer Research**, v. 72, n. 14, p. 3570–3781, 2012.

ESTRELA-LIMA, A.; ARAÚJO, M. S. S.; SOARES, R. P.; RIBEIRO, L. G. R.; DAMASCENO, K. A.; COSTA, A. T.; TEIXEIRA-CARVALHO, A.; MARTINS-FILHO, O. A.; CASSALI, G. D. Plasma biomarkers profile of female dogs with mammary carcinoma and its association with clinical and pathological features. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 14, n. 1, p. 88–100, 2016.

EVANS, W. J.; MORLEY, J. E.; ARGILE, J.; BALES, C.; BARACOS, V.; GUTTRIDGE, D.; JATOI, A.; KALANTAR-ZADEH, K.; LOCHS, H.; MANTOVANI, G.; MARKS, D.; MITCH, W. E.; MUSCARITOLI, M.; NAJAND, A.; PONIKOWSKI, P.; ROSSI, F.; SCHAMBELAN, M.; SCHOLS, A.; SCHUSTER, M.; THOMAS, D.; WOLFE, R.; ANKER, S. D. Cachexia : A new definition. **Clinical Nutrition**, v. 27, n. 261, p. 793–799, 2008.

FREEMAN, L. M. Cachexia and sarcopenia: Emerging syndromes of importance in dogs and cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 26, n. 1, p. 3–17, 2012.

FREEMAN, L. M.; RUSH, J. E.; KEHAYIAS, J. J.; ROSS, J. N.; MEYDANI, S. N.; BROWN, D. J.; DOLNIKOWSKI, G. G.; MARMOR, B. N.; WHITE, M. E.; DINARELLO, C. A.; ROUBENOFF, R. Nutritional alterations and the effect of fish oil supplementation in dogs with heart failure. **Journal of veterinary internal medicine**

- / **American College of Veterinary Internal Medicine**, v. 12, n. 6, p. 440–8, 1998. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9857337>>.
- FRITSCH, D.; ALLEN, T. A.; DODD, C. E.; JEWELL, D. E.; SIXBY, K. A.; LEVENTHAL, P. S.; HAHN, K. A. Dose-Titration Effects of Fish Oil in Osteoarthritic Dogs. **Journal Veterinary Internal Medicine**, v. 24, p. 1020–1026, 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20043800>>.
- FROST, R. A.; LANG, C. H.; GELATO, M. C.; F, D. M. R. A.; SURGERY, C. H. L. Transient Exposure of Human Myoblasts to Tumor Necrosis Factor- α Inhibits Serum and Insulin-Like Growth Factor-I Stimulated Protein Synthesis *. **Endocrinology**, v. 138, n. 10, p. 4153–4159, 2015.
- GAGNE, J. W.; WAKSHLAG, J. J. Pathophysiology and clinical approach to malnutrition in dogs and cats. In: **Nutritional Management of Hospitalized Small Animals**. 1. ed. Oxford: Wiley-Blackwell, 2015. p. 117–127.
- GERMAN, A. J.; HOLDEN, S.; BISSOT, T.; MORRIS, P. J.; BIOURGE, V. Changes in body composition during weight loss in obese client-owned cats: loss of lean tissue mass correlates with overall percentage of weight lost. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 10, n. 5, p. 452–459, 2008.
- GIANNOUDIS, P. V. Current concepts of the inflammatory response after major trauma: An update. **Injury**, v. 34, n. 6, p. 397–404, 2003.
- GLASS, D. J. PI3 Kinase Regulation of Skeletal Muscle Hypertrophy and Atrophy. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, v. 346, p. 267–278, 2010.
- GONZALEZ, M. C.; HORIE, L. M.; HOFFMAN, D. J.; HEYMSFIELD, S. B.; WAITZBERG, D. L. Composição Corporal. In: **Nutrição Oral, Enteral e Parenteral na Prática Clínica**. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2009. p. 323–340.
- GROSS, K. L.; YAMKA, R. M.; KHOO, C.; FRIESEN, K. G. Macronutrients. In: **Small Animal Clinical Nutrition**. 5. ed. Topeka, Kansas: Mark Morris Institute, 2010. p. 50–105.
- HAN, Y.-Y.; LAI, S.-L.; KO, W.-J.; CHOU, C.-H.; LAI, H.-S.; HESTA, M.; VERBRUGGHE, A.; GULBRANDSEN, K. E.; CHRISTOPHE, A.; ZENTEK, J.; HELLWEG, P.; JANSSENS, G. P. J.; LEBLANC, C. J.; HOROHOV, D. W.; BAUER, J. E.; HOSGOOD, G.; MAULDIN, G. E.; RAMOS, E. J. B.; ROMANOVA, I. V.; SUZUKI, S.; CHEN, C.; UGRUMOV, M. V.; SATO, T.; GONCALVES, C. G.; MEGUID, M. M.; SCHMITZ, G.; ECKER, J.; WEISS, G.; MEYER, F.; MATTHIES, B.; PROSS, M.; KOENIG, W.; LIPPERT, H.; MATTOS, P. De; ANDRADE, M.; DENG, X.;

DONG, Q.; BRIDGES, D.; RAGHOW, R.; PARK, E. A.; ELAM, M. B.; RUSSO, G. L.; HAN, Y.-Y.; LAI, S.-L.; KO, W.-J.; CHOU, C.-H.; LAI, H.-S.; WANDER, R. C.; HALL, J. A.; GRADIN, J. L.; DU, S. H.; JEWELL, D. E.; BAUER, J. E.; MAYER, K.; GOKORSCH, S.; FEGBEUTEL, C.; HATTAR, K.; ROSSEAU, S.; WALMRATH, D.; SEEGER, W.; GRIMMINGER, F.; HELLER, A. R.; RÖSSEL, T.; GOTTSCHLICH, B.; TIEBEL, O.; MENSCHIKOWSKI, M.; LITZ, R. J.; ZIMMERMANN, T.; KOCH, T.; LENOX, C. E.; BAUER, J. E.; CALDER, P. C. Effects of fish oil on inflammatory modulation in surgical intensive care unit patients. **Nutrition in clinical practice: official publication of the American Society for Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 27, n. 4, p. 91–8, 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23323770>%5Cn<http://onlinelibrary.wiley.com/storeref/10.1111/jvim.12033/asset/jvim12033.pdf?v=1&t=ijeqr5nc&s=8c355cce8a457cbf78edf01f570eeea4887898f7>>.

HANSEN, R. A.; HARRIS, M. A.; PLUHAR, G. E.; MOTTA, T.; BREVARD, S.; OGILVIE, G. K.; FETTMAN, M. J.; ALLEN, K. G. D. Fish oil decreases matrix metalloproteinases in knee synovia of dogs with inflammatory joint disease. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 19, n. 2, p. 101–108, 2008.

HARPER, E. J. Changing perspectives on aging and energy requirements: Aging, body weight and body composition in humans, dogs and cats. **J. Nutr.**, v. 128, n. 12 SS, p. S2627–S2631, 1998.

HEINRICH, P. C.; BEHRMANN, I.; HAAN, S.; HERMANN, H. M.; MÜLLER-NEWEN, G.; SCHAPER, F. Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signalling and its regulation. **The Biochemical journal**, v. 374, n. Pt 1, p. 1–20, 2003.

HELLER, A. R.; FISCHER, S.; RÖSSEL, T.; GEIGER, S.; SIEGERT, G.; RAGALLER, M.; ZIMMERMANN, T.; KOCH, T. Impact of n-3 fatty acid supplemented parenteral nutrition on haemostasis patterns after major abdominal surgery. **The British journal of nutrition**, v. 87 Suppl 1, p. S95–S101, 2002.

HELLER, A. R.; RÖSSEL, T.; GOTTSCHLICH, B.; TIEBEL, O.; MENSCHIKOWSKI, M.; LITZ, R. J.; ZIMMERMANN, T.; KOCH, T. Omega-3 fatty acids improve liver and pancreas function in postoperative cancer patients. **International Journal of Cancer**, v. 111, n. 4, p. 611–616, 2004.

HESTA, M.; VERBRUGGHE, A.; GULBRANDSEN, K. E.; CHRISTOPHE, A.; ZENITEK, J.; HELLWEG, P.; JANSSENS, G. P. J. Biological effects of short-term

salmon oil administration, using distinct salmon oil sources in healthy dogs. **Journal of Small Animal Practice**, v. 53, n. 12, p. 699–704, 2012.

HIRAI, K.; HUSSEY, H. J.; BARBER, M. D.; PRICE, S. A.; TISDALE, M. J. Biological Evaluation of a Lipid-mobilizing Factor Isolated from the Urine of Cancer Patients. **Cancer Research**, v. 58, p. 2360–2365, 1998.

INUI, A. Feeding and body weight regulation by hypothalamic neuropeptides — mediation of the actions of leptin. **Trends Neurosci**, v. 22, p. 62–67, 1999.

JEE, S. H.; CHIU, H. C.; TSAI, T. F.; TSAI, W. L.; LIAO, Y. H.; CHU, C. Y.; KUO, M. L. The phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signal pathway is involved in interleukin-6-mediated Mcl-1 upregulation and anti-apoptosis activity in basal cell carcinoma cells. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 119, n. 5, p. 1121–1127, 2002.

JEUSETTE, I.; DAMINET, S.; NGUYEN, P.; SHIBATA, H.; SAITO, M.; HONJOH, T.; ISTASSE, L.; DIEZ, M. Effect of ovariectomy and ad libitum feeding on body composition, thyroid status, ghrelin and leptin plasma concentrations in female dogs. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 90, n. 1–2, p. 12–18, 2006.

JOHANSEN, N.; KONDRUP, J.; PLUM, L. M.; BAK, L.; NØRREGAARD, P.; BUNCH, E.; BÆRNTHSEN, H.; ANDERSEN, J. R.; LARSEN, I. H.; MARTINSEN, A. Effect of nutritional support on clinical outcome in patients at nutritional risk. **Clinical Nutrition**, v. 23, n. 4, p. 539–550, 2004.

JOHNS, N.; STEPHENS, N. A.; FEARON, K. C. H. Muscle wasting in cancer. **The International Journal of Biochemistry e Cell Biology**, v. 45, p. 2215–2229, 2013.

JOLLY, C. a; JIANG, Y. H.; CHAPKIN, R. S.; MCMURRAY, D. N. Dietary (n-3) polyunsaturated fatty acids suppress murine lymphoproliferation, interleukin-2 secretion, and the formation of diacylglycerol and ceramide. **The Journal of nutrition**, v. 127, n. 1, p. 37–43, 1997.

KEALY, R. D.; LAWLER, D. F.; BALLAM, J. M.; MANTZ, S. L.; BIERY, D. N.; GREELEY, E. H.; LUST, G.; SEGRE, M.; SMITH, G. K.; STOWE, H. D. Effects of diet restriction on life span and age-related changes in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 220, n. 9, p. 1315–1320, 2002.

KEARNS, R. J.; HAYEK, M. G.; TUREK, J. J.; MEYDANI, M.; BURR, J. R.; GREENE, R. J.; MARSHALL, C. A.; ADAMS, S. M.; BORGERT, R. C.; REINHART, G. A. Effect of age, breed and dietary omega-6 (n-6): Omega-3 (n-3) fatty acid ratio on immune function, eicosanoid production, and lipid peroxidation in young and aged dogs. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 69, n. 2–4, p. 165–183,

1999.

KJELGAARD-HANSEN, M.; STROM, H.; MIKKELSEN, L. F.; ERIKSEN, T.; JENSEN, A. L.; LUNTANG-JENSEN, M. Canine serum C-reactive protein as a quantitative marker of the inflammatory stimulus of aseptic elective soft tissue surgery. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 42, n. 3, p. 342–345, 2013.

KOHL, B. a; DEUTSCHMAN, C. S. The inflammatory response to surgery and trauma. **Current opinion in critical care**, v. 12, n. 4, p. 325–332, 2006.

KUMAR, G. S.; DAS, U. N.; KUMAR, K. V.; MADHAVI, N.; DAS, N. P.; TAN, B. K. H. Effect of n-6 and n-3 fatty acids on the proliferation of human lymphocytes and their secretion of TNF- α and IL-2 in vitro. **Nutrition Research**, 1992.

KUNDU, N.; FULTON, a M. Interleukin-10 inhibits tumor metastasis, downregulates MHC class I, and enhances NK lysis. **Cellular immunology**, v. 180, n. 180, p. 55–61, 1997.

LEBLANC, C. J. **Immunological, hematological and serum biochemical effects of high dietary fish oil and vitamin e supplementation in the dog**. 2003. Louisiana State University, 2003.

LEBLANC, C. J.; HOROHOV, D. W.; BAUER, J. E.; HOSGOOD, G.; MAULDIN, G. E. Effects on dietary supplementation with fish oil on in vivo production of inflammatory mediators in clinically normal dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 69, n. 4, p. 486–493, 2008. Disponível em: <papers2://publication/uuid/99ECF7CE-9FEA-412B-8F3F-85C8A60D54B4>.

LECKER, S. H.; JAGOE, R. T.; GILBERT, A.; GOMES, M.; BARACOS, V.; BAILEY, J.; PRICE, S. R.; MITCH, W. E.; GOLDBERG, A. L. Multiple types of skeletal muscle atrophy involve a common program of changes in gene expression. **The FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, 2004.

LENOX, C. E.; BAUER, J. E. Potential adverse effects of omega-3 Fatty acids in dogs and cats. **J Vet Intern Med**, v. 27, n. 2, p. 217–226, 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23323770>%5Cn<http://onlinelibrary.wiley.com/store/10.1111/jvim.12033/asset/jvim12033.pdf?v=1&t=ijeqr5nc&s=8c355cce8a457cbf78edf01f570eeea4887898f7>>.

LINDER, D.; MUELLER, M. Pet obesity management: Beyond nutrition. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v. 44, n. 4, p. 789–806, 2014.

Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cvsm.2014.03.004>>.

LÓPEZ-LÁZARO, M. The Warburg Effect : Why and How Do Cancer Cells Activate Glycolysis in the Presence of Oxygen ? p. 305–312, 2008.

MAMESSIER, E.; BRUNEAU, J.; KALTENBACH, S.; KOTLARZ, D.; SUAREZ, F.; MASLIAH-PLANCHON, J.; BILLOT, K.; CANIONI, D.; FRANGE, P.; RADFORD-WEISS, I.; ASNAFI, V.; PICARD, C.; HERMINE, O.; RIEUX-LAUCAT, F.; BROUSSE, N.; DAVI, F. LYMPHOID NEOPLASIA A Mendelian predisposition to B-cell lymphoma caused by IL-10R deficiency. v. 122, n. 23, p. 3713–3723, 2015.

MARTIGNONI, M. E.; KUNZE, P.; FRIESS, H. Cancer cachexia. **Molecular Cancer**, v. 2, n. 36, p. 1–3, 2003. Disponível em: <<http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed9&NEWS=N&AN=2010123046>>.

MARTINS, G. R.; GELALETI, G. B.; MOSCHETTA, M. G.; MASCHIO-SIGNORINI, L. B.; DE CAMPOS ZUCCARI, D. A. P. Proinflammatory and Anti-Inflammatory Cytokines Mediated by NF- κ B Factor as Prognostic Markers in Mammary Tumors. **Mediators of Inflammation**, v. 2016, 2016.

MAULDIN, G. E. Nutritional Management of Oncological Diseases. In: **Applied Veterinary Clinical Nutrition**. 1. ed. West Sussex: Wiley-Blackwell, 2012. p. 315–322.

MAWBY, D. I.; BARTGES, J. W.; DAVIGNON, A.; LAFLAMME, D. P.; MOYERS, T. D.; COTTRELL, T. Comparison of Various Methods for Estimating Body Fat in Dogs. **J.Am.Anim Hosp.Assoc.**, v. 40, n. 2, p. 109–114, 2004.

MAYER, K.; GOKORSCH, S.; FEGBEUTEL, C.; HATTAR, K.; ROSSEAU, S.; WALMRATH, D.; SEEGER, W.; GRIMMINGER, F. Parenteral nutrition with fish oil modulates cytokine response in patients with sepsis. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 167, n. 10, p. 1321–1328, 2003.

MAYYAS, F.; SAKURAI, S.; RAM, R.; RENNISON, J. H.; HWANG, E. S.; CASTEL, L.; LOVANO, B.; BRENNAN, M. L.; BIBUS, D.; LANDS, B.; BARNARD, J.; CHUNG, M. K.; VAN WAGONER, D. R. Dietary omega 3 fatty acids modulate the substrate for post-operative atrial fibrillation in a canine cardiac surgery model. **Cardiovascular Research**, v. 89, n. 4, p. 852–861, 2011.

MCCUSKER, R. H.; KELLEY, K. W. Immune – neural connections : how the immune system ' s response to infectious agents influences behavior. **The Journal of Experimental Biology**, v. 216, p. 84–98, 2013.

MCNIEL, E. a; OGILVIE, G. K.; MALLINCKRODT, C.; RICHARDSON, K.; FETTMAN, M. J. Platelet function in dogs treated for lymphoma and hemangiosarcoma and supplemented with dietary n-3 fatty acids. **Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine**, v. 13, n. 6, p. 574–580, 2009. Disponível em: <papers2://publication/uuid/F22C4A8F-32D2-408A-ACB4-4A3DC8B67FAF>.

MEYDANI, S.; ENDRES, S.; WOODS, M.; GOLDIN, B.; SOO, C.; MORRILL-LABRODE, A.; DINARELLO, C.; GORBACH, S. Oral (n-3) fatty acids supplementation suppress cytokines production and lymphocyte proliferation: comparison between young and older women. **Journal of Nutrition**, v. 121, p. 547–555, 1991.

MICHEL, K. E.; SORENMO, K.; SHOFER, F. S. Evaluation of body condition and weight loss in dogs presented to a veterinary oncology service. **Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine**, v. 18, p. 692–695, 2004.

MICHELSSEN, J.; HELLER, J.; WIL, F.; NOBLE, G. K. Effect of surgeon experience on postoperative plasma cortisol and C-reactive protein concentrations after ovariohysterectomy in the dog: a randomised trial. **Australian Veterinary Journal**, v. 90, n. 12, p. 474–478, 2012.

MOONEY, M. A.; VAUGHN, D. M.; REINHART, G. A.; POWERS, R. D.; WRIGHT, J. C.; HOFFMAN, C. E.; SWAIM, S. F.; BAKER, H. J. Evaluation of the effects of omega-3 fatty acid-containing diets on the inflammatory stage of wound healing in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 59, n. 7, p. 859–863, jul. 1998.

MOREAU, M.; DUPUIS, J.; BONNEAU, N. H.; DESNOYERS, M. Clinical evaluation of a nutraceutical, carprofen and meloxicam for the treatment of dogs with osteoarthritis. **The Veterinary record**, v. 152, n. 11, p. 323–329, 2003.

MUELLER, R. S.; FIESELER, K. V; FETTMAN, M. J.; ZABEL, S.; ROSYCHUK, R. a W.; OGILVIE, G. K.; GREENWALT, T. L. Effect of omega-3 fatty acids on canine atopic dermatitis. **The Journal of small animal practice**, v. 45, n. 6, p. 293–297, 2004.

MUMM, J. B.; EMMERICH, J.; ZHANG, X.; CHAN, I.; WU, L.; MAUZE, S.; BLAISDELL, S.; BASHAM, B.; DAI, J.; GREIN, J.; SHEPPARD, C.; HONG, K.; CUTLER, C.; TURNER, S.; LAFACE, D.; KLEINSCHKE, M.; JUDO, M.; AYANOGLU,

G.; LANGOWSKI, J.; GU, D.; PAPORELLO, B.; MURPHY, E.; SRIRAM, V.; NARAVULA, S.; DESAI, B.; MEDICHERLA, S.; SEGHEZZI, W.; MCCLANAHAN, T.; CANNON-CARLSON, S.; BEEBE, A. M.; OFT, M. IL-10 Elicits IFN γ -Dependent tumor immune surveillance. **Cancer Cell**, v. 20, n. 6, p. 781–796, 2011.

OFT, M. IL-10: master switch from tumor-promoting inflammation to antitumor immunity. **Cancer immunology research**, v. 2, n. 3, p. 194–9, 2014. Disponível em: <<http://cancerimmunolres.aacrjournals.org/content/2/3/194.full>>.

OGILVIE, G. K.; FETTMAN, M. J.; MALLINCKRODT, C. H.; WALTON, J. A.; HANSEN, R. A.; DAVENPORT, D. J.; GROSS, KATHY, L.; RICHARDSON, K. . L.; ROGERS, Q.; HAND, M. . S. Effect of Fish Oil , Arginine , and Doxorubicin Chemotherapy on Remission and Survival Time for. **Cancer**, v. 88, n. 8, p. 1916–1928, 2000.

OTTO, G.; GARBER, K. Energy Boost: The Warburg Effect. **Journal of The National Cancer Institute**, v. 96, n. 24, p. 1805–1806, 2004.

PATRA, S. K.; ARORA, S. Integrative role of neuropeptides and cytokines in cancer anorexia-cachexia syndrome. **Clinica Chimica Acta**, v. 413, n. 13–14, p. 1025–1034, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2011.12.008>>.

PESTKA, S.; KRAUSE, C. D.; SARKAR, D.; WALTER, M. R.; SHI, Y.; FISHER, P. B. Interleukin-10 and related cytokines and receptors. **Annual Review of Immunology**, v. 22, n. 1, p. 929–979, 2004. Disponível em: <<http://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.immunol.22.012703.104622>>.

POHL, C.; HOMBACH, A.; KRUIS, W. Chronic inflammatory bowel disease and cancer. **Hepato-gastroenterology**, v. 47, n. 31, p. 57–70, 2000.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; FLOWER, R. J. Hormônios locais, inflamação e reações imunológicas. In: **Farmacologia**. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. p. 202–225.

REMILLARD, R.L. ARMSTRONG, P. J.; DAVENPORT, D. Assisted feeding in hospitalized patients: enteral and parenteral nutrition. In: **Small Animal Clinical Nutrition**. 4. ed. Topeka, Kansas: Mark Morris Institute, 2000. p. 351–400.

ROMANATTO, T.; CESQUINI, M.; AMARAL, M. .; ROMAN, E. A.; MORAES, J. .; TORSONI, M. .; CRUZ-NETO, A. .; VELLOSO, L. . TNF-alpha acts in the hypothalamus inhibiting food intake and increasing the respiratory quotient--effects on leptin and insulin signaling pathways. **Peptides**, v. 28, n. 5, p. 1050–1058, 2007.

ROTHWELL, N. J. Central effects of TNF α on thermogenesis and fever in the rat. **Bioscience Reports**, v. 8, n. 4, p. 345–352, 1988.

ROUSH, J. K.; DODD, C. E.; FRITSCH, D. A.; ALLEN, T. A.; JEWELL, D. E.; SCHOENHERR, W. D.; RICHARDSON, D. C.; LEVENTHAL, P. S.; HAHN, K. A. Multicenter veterinary practice assessment of the effects of omega-3 fatty acids on osteoarthritis in dogs. **Journal of Veterinary Medical Association**, v. 236, n. 1, p. 59–66, 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20043800>>.

SAKER, K. E.; EDDY, A. L.; THATCHER, C. D.; KALNITSKY, J. Manipulation of dietary (n-6) and (n-3) fatty acids alters platelet function in cats. **Journal of Nutrition**, v. 128, n. 12 Suppl, p. 2645S–2647S, 1998.

SAKER, K. E.; SELTING, K. A. Cancer. In: **Small Animal Clinical Nutrition**. 5. ed. Topeka, Kansas: Mark Morris Institute, 2010. p. 587–607.

SAKER, R. .; REMILLARD, R. L. Critical care nutrition and enteral-assisted feeding. In: HAND, M. S.; THATCHER, C. D.; REMILLARD, R. L.; ROUDEBUSH, P.; NOVOTNY, B. . (Ed.). **Small Animal Clinical Nutritional**. [s.l.] Mark Morris Institute, 2010. p. 439–476.

SCHULZE, P. C.; MÖBIUS-WINKLER, S. Muscular levels of proinflammatory cytokines correlate with a reduced expression of insulin- like growth factor-I in chronic heart failure. v. 274, p. 267–274, 2003.

SENKAL, M.; GEIER, B.; HANNEMANN, M.; DESKA, T.; LINSEISEN, J.; WOLFRAM, G.; ADOLPH, M. Supplementation of -3 fatty acids in parenteral nutrition beneficially alters phospholipid fatty acid pattern. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 31, n. 1, p. 12–17, 2007. Disponível em: <<http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed8&NEWS=N&AN=2007011162>>.

SERGEYEV, V.; BROBERGER, C.; HÖKFELT, T. Effect of LPS administration on the expression of POMC, NPY, galanin, CART and MCH mRNAs in the rat hypothalamus. **Molecular Brain Research**, 2001.

SMITH, A. M.; QUALLS, J. E.; O'BRIEN, K.; BALOUZIAN, L.; JOHNSON, P. F.; SCHULTZ-CHERRY, S.; SMALE, S. T.; MURRAY, P. J. A distal enhancer in Il12b is the target of transcriptional repression by the STAT3 pathway and requires the basic leucine zipper (B-ZIP) protein NFIL3. **Journal of Biological Chemistry**, v. 286, n. 26, p. 23582–23590, 2011.

- SMITH, C. E.; FREEMAN, L. M.; RUSH, J. E.; CUNNINGHAM, S. M.; BIOURGE, V. C. Omega-3 fatty acids in Boxer dogs with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. **Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine**, v. 21, n. 2, p. 265–273, 2007. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17427387>>.
- SPEAKMAN, J. R.; VAN ACKER, a; HARPER, E. J. Age-related changes in the metabolism and body composition of three dog breeds and their relationship to life expectancy. **Aging cell**, v. 2, n. 5, p. 265–275, 2003.
- STRASSMANN, G.; FONG, M.; KENNEY, J. S.; JACOB, C. O. Evidence for the involvement of interleukin 6 in experimental cancer cachexia. **Journal of Clinical Investigation**, v. 89, n. 5, p. 1681–1684, 1992.
- TANIGUCHI, T.; KOIDO, Y.; AIBOSHI, J.; YAMASHITA, T.; SUZAKI, S.; KUROKAWA, A. The ratio of interleukin-6 to interleukin-10 correlates with severity in patients with chest and abdominal trauma. **American Journal of Emergency Medicine**, v. 17, n. 6, p. 548–551, 1999.
- TASAKA, A. C. Antiinflamatórios Não-Esteroidais. In: **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p. 212–226.
- TERADA, S.; TAKLZAWA, M.; YAMAMOTO, S.; EZAKI, O.; AKAGAWA, K. S. Suppressive Mechanisms of EPA on Human T Cell Proliferation. **Microbiology and Immunology**, v. 45, n. 6, p. 473–481, 2001.
- THOMASON, J.; LUNSFORD, K.; MULLINS, K.; STOKES, J.; PINCHUK, L.; WILLS, R.; MCLAUGHLIN, R.; LANGSTON, C.; PRUETT, S.; MACKIN, A. Platelet Cyclooxygenase Expression in Normal Dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 25, n. 5, p. 1106–1112, 2011.
- TIZARD, I. R. Imunidade Inata: Mediadores Pró-Inflamatórios e Antimicrobianos. In: **Imunologia Veterinária**. 9. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014a. p. 21–29.
- TIZARD, I. R. Sinalização Celular: Citocinas seus Receptores. In: **Imunologia Veterinária**. 9. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014b. p. 74–83.
- TIZARD, I. R. Respostas Sistêmicas à Inflamação. In: **Imunologia Veterinária**. 9. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014c. p. 52–60.
- TORRINHAS, R. S. M.; CAMPOS, L. D. N.; WAITZBERG, D. L. Gorduras. In: **Nutrição Oral, Enteral e Parenteral na Prática Clínica**. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2009. p. 121–148.
- TSEKOS, E.; REUTER, C.; STEHLE, P.; BOEDEN, G. Perioperative administration

of parenteral fish oil supplements in a routine clinical setting improves patient outcome after major abdominal surgery. **Clinical Nutrition**, v. 23, n. 3, p. 325–330, 2004.

VAIL, D. M.; OGILVIE, G. K.; WHEELER, S. L.; FEETMAN, M. J.; JOHNSTON, S. D.; HEGSTAD, R. L. Alterations in carbohydrate metabolism in canine lymphoma. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 4, p. 8–11, 1990.

VANDEWEERD, J. M.; COISNON, C.; CLEGG, P.; CAMBIER, C.; PIERSON, A.; HONTOIR, F.; SAEGERMAN, C.; GUSTIN, P.; BUCZINSKI, S. Systematic Review of Efficacy of Nutraceuticals to Alleviate Clinical Signs of Osteoarthritis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 26, n. 3, p. 448–456, 2012.

VESTER, B. M.; SUTTER, S. M.; KEEL, T. L.; GRAVES, T. K.; SWANSON, K. S. Ovariohysterectomy alters body composition and adipose and skeletal muscle gene expression in cats fed a high-protein or moderate-protein diet. **Animal: an international journal of animal bioscience**, v. 3, n. 9, p. 1287–1298, 2009.

Disponível em: http://www.journals.cambridge.org/abstract_S1751731109004868%5Cnhttp://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22444905.

VICKIE E. BARACOS, TONY REIMAN, MARINA MOURTZAKIS, IOANNIS GIOULBASANIS, and S. A. Body composition in patients with non–small cell lung cancer: a contemporary view of cancer cachexia with the use of computed tomography image analysis. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 91, p. 1133–1137, 2010. Disponível em: <http://ajcn.publicaciones.saludcastillayleon.es/content/91/4/1133S.short>.

VITKOVIC, L.; KONSAMAN, J. .; BOCKAERT, J.; DANTZER, R.; HOMBURGER, V.; JACQUE, C. Cytokine signals propagate through the brain. **Mol Psychiatry**, v. 5, n. 6, p. 604–615, 2000.

WEISS, G.; MEYER, F.; MATTHIES, B.; PROSS, M.; KOENIG, W.; LIPPERT, H. Immunomodulation by perioperative administration of n-3 fatty acids. **British Journal of Nutrition**, v. 87, n. SUPPL. 1, p. S89–S94, 2002. Disponível em: <http://mcgill.on.worldcat.org/atoztitles/link?sid=OVID:embase&id=pmid:&id=doi:&issn=0007-1145&isbn=&volume=87&issue=SUPPL.+1&spage=S89&pages=S89-S94&date=2002&title=British+Journal+of+Nutrition&atitle=Immunomodulation+by+perioperative+administration+of+n>.

- WICHMANN, M. W.; THUL, P.; CZARNETZKI, H. D.; MORLION, B. J.; KEMEN, M.; JAUCH, K. W. Evaluation of clinical safety and beneficial effects of a fish oil containing lipid emulsion (Lipoplus, MLF541): data from a prospective, randomized, multicenter trial. **Crit Care Med**, v. 35, n. 3, p. 700–706, 2007.
- WILLIAMS, A.; SUN, X.; FISCHER, J. E.; HASSELGREN, P. The expression of genes in the ubiquitin-proteasome proteolytic pathway is increased in skeletal muscle from patients with cancer. p. 744–750, 1999.
- WONG, W. W.; LEE, L. S.; KLEIN, P. D. Deuterium and oxygen-18 measurements on microliter samples of urine, plasma, saliva, and human milk. **Am J Clin Nutr**, v. 45, p. 905–913, 1987.
- WOOD, S. C.; SEELEY, R. J.; PORTE, J. D.; SCHWARTZ, M. W. Signals that regulate food intake and energy homeostasis. **Science**, v. 280, p. 1378–1383, 1998.
- YAHAMSHITA, K.; FUJINAGA, T.; MIYAMOTO, T.; HAGIO, M.; IZUMISAWA, Y.; KOTANI, T. Canine Acute Phase Response: Relationship between Serum Cytokine Activity and Acute Phase Protein in Dogs. **J.Vet.Med.Sci**, v. 56, n. 3, p. 487–492, 1994.
- YAMAMOTO, S.; SHIDA, T.; MIYAJI, S.; SANTSUKA, H.; FUJISE, H.; MUKAWA, K.; FURUKAWA, E.; NAGAE, T.; NAIKI, M. Changes in serum C-reactive protein levels in dogs with various disorders and surgical traumas. **Veterinary research communications**, v. 17, n. 2, p. 85–93, 1993. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8212527>>.
- YOO, S. Y.; LEE, S. Y.; YOO, N. C. Cytokine expression and cancer detection. **Med.Sci.Monit.**, v. 15, n. 3, p. RA49-RA56, 2009.
- YOSHIDA, T.; DELAFONTAINE, P. Mechanisms of Cachexia in Chronic Disease States. **The American Journal of the Medical Sciences**, v. 350, n. 4, p. 250–256, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1097/MAJ.0000000000000511>>.
- ZANGHI, B. M.; CUPP, C. J.; PAN, Y.; TISSOT-FAVRE, D. G.; MILGRAM, N. W.; NAGY, T. R.; DOBSON, H. Noninvasive measurements of body composition and body water via quantitative magnetic resonance, deuterium water, and dual-energy x-ray absorptiometry in cats. **Am J Vet Res**, v. 74, p. 721–732, 2013.