

RODRIGO FERNANDO GOMES OLIVINDO

**Efeitos dos beta-glucanos na glicemia e lipidemia de cães  
diabéticos**

São Paulo

2022

RODRIGO FERNANDO GOMES OLIVINDO

**Efeitos dos beta-glucanos na glicemia e lipidemia de cães  
diabéticos**

**VERSÃO CORRIGIDA**

Tese 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 Doutor em Ciências.

**Departamento:**

Clínica Médica

**Área de concentração:**

Clínica Veterinária

**Orientador:**

Prof. Dr. Marcio Antonio Brunetto

São Paulo

2022

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)

4275  
FMVZ

Olivindo, Rodrigo Fernando Gomes  
Efeitos dos beta-glucanos na glicemia e lipidemia de cães diabéticos / Rodrigo Fernando  
Gomes Olivindo. – 2022.  
112 f. : il.

Doutorado (Tese) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e  
Zootecnia. Departamento de Clínica Médica, São Paulo, 2022.

Programa de Pós-Graduação: Clínica Veterinária.

Área de concentração: Clínica Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Marcio Antonio Brunetto.

1. Hipertrigliceridemia. 2. Fibras dietéticas. 3. Suplementação. 4. Nutrologia. I. Título.



## Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia  
Universidade de São Paulo

### CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Efeitos dos beta-glucanos na glicemia e lipídemia de cães diabéticos", protocolada sob o CEUA nº 9675070219 (ID 006323), sob a responsabilidade de **Márcio Antônio Brunetto e equipe; Rodrigo Fernando Gomes Olivindo** - 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 27/03/2019.

We certify that the proposal "Effects of beta-glucans on glycaemia and lipidemia in diabetic dogs", utilizing 13 Dogs (males and females), protocol number CEUA 9675070219 (ID 006323), under the responsibility of **Márcio Antônio Brunetto and team; Rodrigo Fernando Gomes Olivindo** - 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 03/27/2019.

Finalidade da Proposta: [Pesquisa](#)

Vigência da Proposta: de [03/2019](#) a [03/2023](#)

Área: [Clínica Médica Veterinária](#)

Origem: [HOVET/FMVZ/USP](#)

Espécie: [Cães](#)

sexo: [Machos e Fêmeas](#)

idade: [1 a 15 anos](#)

N: [13](#)

Linhagem: [Todas](#)

Peso: [1 a 50 kg](#)

Local do experimento: [Hovet - FMVZ - USP](#)

Comentário da CEUA: [Aprovado](#)

São Paulo, 14 de dezembro de 2020

Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna

Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade  
de São Paulo

Camilla Mota Mendes

Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade  
de São Paulo

## FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: OLIVINDO, Rodrigo Fernando Gomes

Título: **Efeitos dos beta-glucanos na glicemia e lipídemia de cães diabéticos**

Tese 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 Doutor em Ciências.

Data: \_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_

### Banca Examinadora

Prof.Dr(a) \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof.Dr(a) \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof.Dr(a) \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof.Dr(a) \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof.Dr(a) \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

## DEDICATÓRIA

*Dedico ao Rodrigo Olivindo de 2016, que não desistiu  
mediante a todos os desafios e medos, e que teve fé,  
persistência e paciência para chegar até aqui.*

## AGRADECIMENTOS

A principal força motriz para a execução deste trabalho, Deus, que em toda sua bondade me proporcionou a resiliência, a força e a energia necessária para encerrar este ciclo.

À minha mãe, Maria do Carmo Vidal, que não descansou nenhum instante através de seu amor/torcida, de suas palavras de acolhimento e de suas muitas orações para que eu conseguisse chegar ao fim desta etapa, sem dúvidas só consegui por você e para você, te amo!

Ao meu irmão, Rafael Olivindo, por ser meu grande exemplo profissional e por me encorajar em todos os momentos de desafios, ansiedades e questionamentos sobre o legado desta fase, mesmo sem saber o que falar você sempre esteve lá para me dar força, te amo!

Aos meus amigos de vida, família esta que Deus abençoou e me fez digno de manter próximo do coração, mesmo diante da distância do Nordeste ou mesmo alguns km da grande São Paulo, quero deixar o meu obrigado por cada vez que vocês foram únicos em me dizer que eu conseguiria, mesmo sem eu ter tanta certeza da complexidade que estava vivendo, amo vocês e esse momento é nosso, obrigado Ize Melo, Katarinne Barbosa, Ákila Vasconcelos, Carlos Mello, Carol Malheiros, Fernando Soares, Renan Cury, Eduardo Toma, Natália Rodrigues, Luciana Figueira, Esther Escarlath, Joana Jucelita, Camila Coutinho, Werner Rocha, Agnys Raquel, Hildeanne Rodrigues, Cristiane Coelho, Jamilton Eduardo, Juliana Nhanhareli, Daniela Alcântara, Denner dos Anjos, Ana Rafaella, Douglas Ripper e Simone Tierno por todo o carinho.

Ao meu orientador, Professor Marcio Antonio Brunetto, por todas as trocas, ensinamentos e principalmente por todas as oportunidades ofertadas durante este período, sempre serei muito grato ao Senhor e tenho muito orgulho de ser parte do seu legado.

Aos meus "co-orientados" de iniciação científica e amigos, Yuri Calvo e Susan Rebecca, sem vocês este estudo teria sido muito mais difícil, obrigado por cada minuto de coleta, por cada dia exaustivo me dando suporte e apoio, e obrigado,

mesmo, por tanto aprendizado, ver vocês crescendo ao longo desta jornada foi uma das melhores partes de tudo isso.

Aos meus amigos da Pós-graduação que fizeram parte dessa família paulistinha que construí, agradeço de coração, por cada palavra de acalento, cada sentimento depositado em mim e cada momento leve que me trouxe esperança, amor e encheu meu coração por estar longe de casa, em nome de Andressa Amaral, Bruna Ruberti, Diego Garcia, Larissa Risolia, Michelle Carregallo, Vinicius Vasques e Thiago Vendramini meu muito obrigado.

Agradeço especialmente à empresa Biorigin, em nome de Thaila Putarov e à Premier Pet, em nome de Flávio Lopes e Marina Cruz, pelo apoio e auxílio financeiro e logístico, que por meio de insumos importantes conseguimos desenvolver este estudo, empresas que andam junto da ciência fazem toda a diferença na vida das pessoas.

A todos os amigos e parceiros do CEPEN Pet, que dividiram tantos momentos e tantas palestras ao longo deste ciclo, agradeço o acolhimento no grupo, em especial à Mariana Ramos Queiroz que ajudou, bastante, na execução das análises estatísticas, ao Gael Carvalho pelo auxílio durante as coletas, à Vivian Pedrinelli e Fábio Teixeira por todas as trocas e ensinamentos nesta jornada.

Agradeço aos servidores do HOVET-FMVZ/USP, que dentro de suas competências me ajudaram durante o estudo, em especial a equipe do Laboratório Clínico do Departamento de Clínica Médica: Claudia Regina Stricagnolo, Cleide Donizete Costa, Maria Helena da Silva e Clara Satsuki Mori que sempre ajudaram na logística e realização dos exames laboratoriais e, a equipe de médicas veterinárias do Serviço de Clínica Médica do HOVET-FMVZ/USP: Bruna Coelho, Denise Maria Nunes Simões e a Khadine Kazue Kanayama, que auxiliaram na triagem de alguns pacientes.

Aos servidores do HOVET/FMVZ, em nome do enfermeiro do Serviço de Clínica Médica do HOVET-FMVZ, Milton Gregório dos Santos, por todo o suporte e logística durante as coletas, à Joselita Maria da Silva, responsável pela organização do ambiente hospitalar e laboratorial utilizado durante o estudo, à



“tia” Marlene e o Sr. José, por todas as vezes que conseguiram abrir os cadeados dos portões da FMVZ quando fiquei trancado tarde da noite.

À toda equipe da administração da FMVZ, em nome de Joana Dias e Helena Sayoko que ajudaram sempre de maneira resolutiva nos problemas burocráticos que surgiram, além de tudo obrigado pelo carinho e atenção sempre a mim transmitidos.

A todos os tutores e pacientes que participaram do estudo, sem dúvidas vocês foram fundamentais e incríveis dentro do que foi proposto, muito obrigado por toda a paciência e energia depositada neste estudo que tem o intuito de melhorar a vida de mais animais, portanto obrigado Sr. Nilson e Haru; Sr. Hugo e Tico; Sra. Juliana e Luigi; Sra. Márcia e Susy; Sra. Viviane e Marvin; Sra. Tathiana e Lady; Sra. Jaqueline e Tequila; Sra. Rosalina e Kaká (*in memoriam*); Sra. Elisa e Luna (*in memoriam*); Sra. Jucimeire e Angelina; Sra. Maria Helena e Mileu; Sra. Valeria e Jake; Sra. Adriana e Pakkum; Sra. Jaqueline e Mel.

Minha vontade era nominar todos os familiares, amigos e colegas que participaram de alguma forma desta jornada me dando apoio, carinho e atenção, porém desde já deixo meu muito obrigado a todos vocês, pois seus nomes estarão para sempre em meu coração.

*Só eu sei cada passo por mim dado  
nessa estrada esburacada que é a vida,  
passei coisas que até mesmo Deus duvida,  
fiquei triste, capiongo, aperreado,  
porém nunca me senti desmotivado,  
me agarrava sempre numa mão amiga,  
e de forças minha alma era munida  
pois do céu a voz de Deus dizia assim:  
– Suba o queixo, meta os pés, confie em mim,  
vá pra luta que eu cuido das feridas.*

*(Bráulio Bessa)*

## RESUMO

OLIVINDO, R.F.G. **Efeitos dos beta-glucanos na glicemia e lipidemia de cães diabéticos**. 2022. 112p. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022.

O diabetes mellitus (DM) compreende um conjunto de transtornos metabólicos caracterizados por hiperglicemia resultante de alterações na secreção de insulina, ação da insulina ou ambos. Em cães, o DM ocorre geralmente devido à destruição das células beta-pancreáticas por alterações imunomediadas, degeneração vacuolar ou pancreatite. Por isso, o manejo dietético, assim como a insulino-terapia, são fundamentais para diminuir as consequências relacionadas às alterações metabólicas resultantes da doença, logo a utilização dos beta-glucanos como prebióticos hipoglicemiantes e hipolipemiantes, já relatado em estudos prévios, podem ser uma terapia adjuvante importante para o tratamento de cães diabéticos. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da suplementação de 15mg/kg de peso corporal de beta-glucanos (BG) extraídos de leveduras em variáveis glicêmicas e lipídicas de cães diagnosticados com DM. Foram incluídos 14 cães que atenderam os critérios de inclusão: animais diabéticos, fêmeas castradas ou machos, de faixas etárias variadas, sem outras afecções concomitantes, com escore de condição corporal (ECC) entre 4 e 6, segundo escala de 9 pontos descrita por Laflamme (1997). O estudo é um ensaio clínico prospectivo, longitudinal, randomizado, com delineamento inteiramente casualizado duplo-cego. Os animais avaliados passaram por três fases. A Fase 0 compreendeu o período de estabilização da glicemia e controle dos sinais clínicos da doença. Nesse intervalo foi padronizada a dieta, bem como ajustada a dose de insulina e a frequência de administração para todos os cães. Fases 1 e 2: foram realizadas avaliações baseadas em medidas repetidas no tempo no dia 56 e 140, o grupo em tratamento (n=8) recebeu suplementação de 0,1% de MacroGard® encapsulado [15mg/kg de peso corporal (Beta-1,3/1,6 - glucanos de levedura)], enquanto o grupo controle (n=6) não recebeu suplementação com BG, mas foram fornecidas cápsulas com alimento coadjuvante para cães diabéticos moído (o mesmo empregado durante todo o estudo, para ambos os grupos). Nos 15 dias precedentes ao final das fases 1 e 2 foram fixados os sensores de mensuração contínua da glicemia (SMCG) FreeStyle Libre e, após este período, os animais retornaram para realizar as curvas glicêmicas com coletas a cada 2 horas, totalizando 6 coletas (método convencional). Foram utilizadas duas metodologias de mensuração da glicemia nos 14 cães avaliados após cada fase (Fases 1 e 2). As glicemias foram determinadas por meio de SMCG e também por curva glicêmica convencional no final de cada fase, já a concentração sérica de triglicérides e colesterol foi avaliada pelo método glicerol fosfato oxidase/peroxidase. Para análise dos resultados do SMCG foi estabelecido o período de 72 horas, após o primeiro dia da fixação do sensor, ou seja, 2º, 3º e 4º dias para igualar o mesmo período de avaliação nos 14 cães diabéticos. Nos resultados obtidos, inicialmente foi verificada a normalidade dos dados pelo teste de SHAPIRO-WILK e a homogeneidade das variâncias comparadas pelo teste de Levine. Após verificação das premissas estatísticas, foi realizada análise de variância com medidas repetidas no tempo pelo PROC MIXED (SAS). Valores de  $p < 0,05$  foram considerados significativos. Com base nos resultados das curvas glicêmicas aferidas pelo SMCG, foi possível observar que os animais suplementados com BG apresentaram menores valores de glicose máxima quando comparados aos do grupo placebo ( $p = 0,02$ ). Além disso, foi possível observar interação de tempo e tratamento

no grupo placebo em relação aos valores de glicemias médias ( $p=0,007$ ). Os resultados das glicemias médias obtidas por meio das curvas convencionais realizadas após os animais terem recebido os dois tratamentos do estudo não apresentaram diferenças. Em relação às variáveis lipídicas, foram observadas menores concentrações de triglicérides basais ( $p=0,0058$ ) e menores trigliceridemia média ( $p=0,0204$ ) e máxima ( $p=0,0248$ ) no grupo tratado com BG. De acordo com o delineamento e metodologias empregados no presente estudo, pode-se concluir que a suplementação de BG na dose de 15mg/kg de peso corporal apresentou poucos efeitos na glicemia e colesterolemia, mas pode ser uma estratégia eficiente para o controle da trigliceridemia de cães diabéticos.

**Palavras-chave:** hiperlipidemia, hiperglicemia, fibras solúveis, caninos

## ABSTRACT

OLIVINDO, R.F.G. **Effects of beta-glucans on glycemia and lipidemia in diabetic dogs** [Efeitos dos beta-glucanos na glicemia e lipidemia de cães diabéticos]. 2022. 112p. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022.

Diabetes mellitus (DM) comprises a set of metabolic disorders characterized by hyperglycemia resulting from changes in insulin secretion, insulin action, or both. In dogs, DM usually occurs due to the destruction of pancreatic beta cells by immune-mediated changes, vacuolar degeneration, or pancreatitis. Therefore, dietary management, as well as insulin therapy, are essential to reduce the consequences related to metabolic changes resulting from the disease, so the use of beta-glucans as hypoglycemic and hypolipidemic prebiotics, already reported in previous studies, can be an adjuvant therapy important for the treatment of diabetic dogs. The aim of this study was to evaluate the effects of supplementation with 15mg/kg of body weight of beta-glucans (BG) extracted from yeast on glycemic and lipidemic variables in dogs diagnosed with DM. Fourteen dogs that met the inclusion criteria were included: diabetic animals, castrated females or males, of different age groups, without other concomitant conditions, with a body condition score (ECC) between 4 and 6, according to a 9-point scale described by Laflamme (1997). The study is a prospective, longitudinal, randomized clinical trial with a completely randomized double-blind design. The evaluated animals went through three phases. Phase 0 comprised the period of glycemic stabilization and control of clinical signs of the disease. During this interval, the diet was standardized, as well as the insulin dose and frequency of administration for all dogs. Phases 1 and 2: evaluations were performed based on repeated measurements over time on days 56 and 140, the treatment group (n=8) received 0.1% MacroGard® encapsulated supplementation [15mg/kg of body weight (Beta- 1.3/1.6 - yeast glucans)], while the control group (n=6) did not receive supplementation with BG, but capsules with ground coadjuvant food for diabetic dogs were provided (the same used throughout the study, to both groups). In the 15 days preceding the end of phases 1 and 2, the sensors for continuous measurement of blood glucose (SMCG) FreeStyle Libre were fixed and, after this period, the animals returned to perform the glycemic curves with collections every 2 hours, totaling 6 collections (conventional method). Two methods of measuring blood glucose were used in the 14 dogs evaluated after each phase (Phases 1 and 2). Glycemias were determined using SMCG and also using a conventional glycemic curve at the end of each phase, whereas serum concentrations of triglycerides and cholesterol were assessed using the glycerol phosphate oxidase/peroxidase method. For analysis of the SMCG results, a period of 72 hours was established after the first day of sensor fixation, that is, 2nd, 3rd and 4th days to equal the same evaluation period in the 14 diabetic dogs. In the results obtained, the normality of the data was initially verified by the SHAPIRO-WILK test, and the homogeneity of the variances was compared by the Levine test. After verifying the statistical assumptions, analysis of variance was performed with measures repeated over time by PROC MIXED (SAS). P values <0.05 were considered significant. Based on the results of the glycemic curves measured by the SMCG, it was possible to observe that the animals supplemented with BG had lower maximum glucose values when compared to the placebo group (p=0.020). In addition, it was possible to observe interaction between time and treatment in the placebo group in relation to mean blood glucose levels (p=0.007). The results of the average glycemias obtained through the conventional

curves performed after the animals had received the two treatments of the study did not show differences. With regard to lipid variables, lower concentrations of basal triglycerides ( $p=0.0058$ ) and mean ( $p=0.0204$ ) and maximum ( $p=0.0248$ ) triglyceridemia were observed in the group treated with BG. According to the design and methodologies employed in the present study, it can be concluded that BG supplementation at a dose of 15mg/kg of body weight had little effect on glycemia and cholesterolemia, but it can be an efficient strategy for controlling triglyceridemia in diabetic dogs.

**Keywords:** hyperlipidemia, hyperglycemia, soluble fiber, canines

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Composição química do alimento <sup>1</sup> utilizado no estudo. ....	51
<b>Tabela 2.</b> Descrição dos pacientes que foram incluídos no estudo.....	62
<b>Tabela 3.</b> Peso corporal (em kg) dos pacientes avaliados ao longo do estudo, nas fases 0, 1 e 2. ....	63
<b>Tabela 4.</b> Escore de condição corporal dos pacientes avaliados ao longo do estudo, nas fases 0, 1 e 2.....	64
<b>Tabela 5.</b> Peso corporal (em kg) e escore de condição corporal médios dos pacientes avaliados ao longo do estudo, nas fases 0, 1 e 2.....	64
<b>Tabela 6.</b> Perfil bioquímico (perfil renal, perfil hepático, triglicérides e colesterol) dos animais após o período de estabilização (Fase 0). ....	66
<b>Tabela 7.</b> Perfil bioquímico (perfil renal, perfil hepático, triglicérides e colesterol) dos animais após a retirada do primeiro sensor do SMCG (Fase 1).....	68
<b>Tabela 8.</b> Perfil bioquímico (perfil renal, perfil hepático, triglicérides e colesterol) dos animais após a retirada do segundo sensor do SMCG (Fase 2).....	69
<b>Tabela 9.</b> Concentrações séricas de triglicérides e colesterol dos grupos experimentais (valores em jejum, mínimos, médios e máximos).....	70
<b>Tabela 10.</b> Variáveis glicêmicas contínuas médias, mínimas e máximas observadas nos grupos experimentais.....	78
<b>Tabela 11.</b> Variáveis glicêmicas obtidas por curva glicêmica convencional nos dois grupos experimentais .....	80
<b>Tabela 12.</b> Glicemias médias obtidas por meio dos diferentes métodos de determinação.....	90
<b>Tabela 13.</b> Concentrações plasmáticas médias de hemoglobina glicada e frutossamina sérica observadas nas fases 0,1 e 2 no grupo placebo.....	94
<b>Tabela 14.</b> Concentrações plasmáticas médias de hemoglobina glicada e frutossamina sérica observadas nas fases 0,1 e 2 no grupo beta-glucanos. ....	<b>Erro!</b>
<b>Indicador não definido.</b>	
<b>Tabela 15.</b> Descrição dos pacientes que foram incluídos no estudo de sangue capilar da extremidade distal da cauda .....	78
<b>Tabela 16.</b> Valores de referência utilizados no HOVET-USP para proteína total, albumina, ALT, FA, ureia, creatinina, glicose, triglicérides e colesterol.....	96

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Fluxograma de seleção dos pacientes .....	54
<b>Figura 2.</b> Linha do tempo dos períodos experimentais.....	54
<b>Figura 3.</b> Curvas de colesterolemia (A e B) e trigliceridemia (C e D) fases 0, 1 e 2 do estudo, dentro de cada grupo.....	64
<b>Figura 4.</b> Curvas de colesterolemia (A e B) e de trigliceridemia (C e D) fases 1 e 2 do estudo (mesmos tempos).....	73
<b>Figura 5.</b> Glicemia intersticial média obtida pelo sistema de mensuração contínua (SMCG) em cães diabéticos nas 72 horas avaliadas na coleta 1.....	69
<b>Figura 6.</b> Glicemia intersticial média obtida pelo sistema de mensuração contínua (SMCG) em cães diabéticos nas 72 horas avaliadas na coleta 2.....	70
<b>Figura 7.</b> Curvas glicêmicas médias (coletas 0,1 e 2) - evolução do parâmetro dentro dos grupos.....	71
<b>Figura 9.</b> Áreas abaixo da curva das glicemias obtidas na coleta 1.....	81
<b>Figura 10.</b> Áreas abaixo da curva das glicemias obtidas na coleta 2.....	81
<b>Figura 11.</b> Fluxograma de execução da curva glicêmica. <b>Erro! Indicador não definido.</b>	
<b>Figura 12.</b> Pinçamento de cauda para obtenção de glicemia capilar.....	80
<b>Figura 13.</b> Análise de correlação entre as metodologias glicemia da ponta da cauda (GC) e padrão ouro (PO).....	75



## LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

*AAHA - American Animal Hospital Association*

*ADA - American Association Diabetes*

ALT - Alaninoaminotransferase

BG - Beta-glucanos

Ca - Cálcio

*CETP - Cholesterol ester transfer protein*

DM – Diabetes mellitus

DMC - Diabetes mellitus canino

DMID - Diabetes mellitus insulino-dependente

DMNID - Diabetes mellitus não insulino-dependente

ECC - Escore de condição corporal

FA – Fosfatase alcalina

GH – *Growthe hormone*

HbA1c - Hemoglobina glicada

*HDLs - High-density lipoproteins*

IDF- International Diabetes Federation

*IDL - Intermediary-density lipoproteins*

IGF - *Insulin-like growth factor 1*

LADA - *Latent Autoimmune Diabetes in the Adult*

*LDLs - Low-density lipoproteins*

SREBP- *Sterol regulatory element-binding proteins*

*VLDLs - Very-low-density lipoproteins*

## SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO .....	25
2.CAPÍTULO I – REVISÃO NARRATIVA DA LITERATURA.....	28
2.1. HOMEOSTASE GLICÊMICA.....	29
2.1.1. AÇÕES REGULADORAS E CONTRARREGULADORAS DA HOMEOSTASE GLICÊMICA.....	30
2.1.2. MONITORAMENTO DA GLICEMIA NO DMC .....	32
2.1.2.1. PROTEÍNAS GLICADAS .....	33
2.2. METABOLISMO LIPÍDICO .....	35
2.2.1. LIPOPROTEÍNAS CANINAS (LPs) .....	36
2.2.2. DIGESTÃO E METABOLIZAÇÃO DOS LIPÍDIOS.....	37
2.3. DIABETES MELLITUS E DISLIPIDEMIA .....	39
2.4. BETA-GLUCANOS .....	41
2.4.1. MECANISMO DE AÇÃO DOS BETA-GLUCANOS .....	43
<u>3.CAPÍTULO II: EFEITOS DOS BETA-GLUCANOS NA GLICEMIA E LIPIDEMIA DE CÃES DIABÉTICOS .....</u>	<u>48</u>
3.1.HIPÓTESE. ....	49
3.2. OBJETIVOS .....	49
3.2.1. PRINCIPAL.....	49
3.2.2. ESPECÍFICOS.....	49
3.3. MATERIAL E MÉTODOS .....	50
3.3.1. PACIENTES DO ESTUDO .....	50
3.3.2. DIETA EXPERIMENTAL .....	50
3.3.3. ESTABILIZAÇÃO DO PACIENTE .....	52
3.3.4. PROTOCOLO EXPERIMENTAL .....	53
3.3.5. ANÁLISES LABORATORIAIS .....	57
3.3.5.1. SISTEMA DE MENSURAÇÃO CONTÍNUA DE GLICOSE.....	59
3.3.6. ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	60
3.3.7. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	61

3.3.7.1. AVALIAÇÕES LABORATORIAIS .....	65
3.3.7.1.1. PARÂMETROS LIPÍDICOS .....	65
3.3.7.1.2. PARÂMETROS GLICÊMICOS .....	75
3.3.7.1.2.1. VARIÁVEIS GLICÊMICAS CONTÍNUAS.....	76
3.3.7.1.2.2. VARIÁVEIS GLICÊMICAS CONVECIONAIS .....	79
4. CAPÍTULO III: SANGUE CAPILAR DA EXTREMIDADE DISTAL DA CAUDA COMO ALTERNATIVA PARA MONITORAMENTO GLICÊMICO EM CÃES DIABÉTICOS.....	84
4.1. HIPÓTESE .....	85
4.2. OBJETIVOS .....	855
4.3. MATERIAL E MÉTODOS .....	86
4.3.1. PACIENTES DO ESTUDO .....	86
4.3.2. PROTOCOLO EXPERIMENTAL .....	87
4.4. RESULTADOS .....	89
5. PROTEÍNAS GLICADAS UTILIZADAS PARA O MONITORAMENTO DOS PACIENTES DO ESTUDO.....	93
6. CONCLUSÕES GERAIS .....	95
7. REFERÊNCIAS .....	97

## 1. INTRODUÇÃO

Segundo a *American Association Diabetes* (ADA, 2010), o diabetes mellitus (DM) compreende um conjunto de transtornos metabólicos caracterizados por hiperglicemia resultante de defeitos na secreção de insulina, ação da insulina ou ambos, sendo classificado como uma síndrome multifatorial que envolve fatores genéticos, inflamatórios, nutricionais, hormonais e imunológicos. No diabetes mellitus canino (DMC) a etiopatogênese ocorre geralmente devido à destruição imunomediada, degeneração vacuolar ou pancreatite que leva à perda de células beta de forma progressiva (BEHREND et al., 2018; DAVISON et al., 2003).

Por se tratar de uma síndrome multifatorial, várias alterações metabólicas podem ser observadas nos cães diabéticos, sendo as manifestações clínicas mais comuns: polifagia, perda de peso, poliúria e polidipsia compensatória resultante da hiperglicemia que ocorre como consequência da deficiência de insulina (CATCHPOLE et al., 2013; FELDMAN, 2015; HOENIG, 2014).

O DMC pode advir de alterações metabólicas de doenças endócrinas, tais como às que levam a hipersecreção de hormônios anti-reguladores da insulina, como por exemplo nos casos de hipersomatotropismo (SELMAN et al., 1994), hipercortisolismo (MICELI et al., 2017) e feocromocitoma (GILSON et al., 1994; RONEN et al., 2019), além dos casos de hipotireoidismo que levam a resistência insulínica devido às altas concentrações séricas de GH, IGF-1 e do tecido adiposo abdominal (HOFER-INTEEWORN et al., 2012) e administração exógena de glicocorticóides e progestágenos. A obesidade canina, por sua vez, ainda não é considerada um fator de risco direto para o desenvolvimento de DM em cães, apesar

de resultar em resistência insulínica nestes pacientes (BRUNETTO et al., 2011; VERKEST et al., 2011).

As principais complicações clínicas observadas nos pacientes diabéticos caninos são a perda de peso progressiva, catarata, perda súbita da visão, cetoacidose diabética, coma e dependendo das complicações do quadro, a morte. Portanto, o principal objetivo do tratamento é minimizar as manifestações clínicas e normalizar a glicemia ou pelo menos manter em valores levemente aumentados com poucas oscilações ao longo do dia, sendo atualmente aceitável os seguintes valores de referências: 100 a 200mg/dL, na maior parte do dia e, 80 – 150mg/dL no nadir, momento de máxima ação da insulina nestes pacientes (BEHREND et al., 2018).

O tratamento do DMC é baseado na insulino terapia, sendo realizada a aplicação de insulina exógena e, no manejo nutricional que é fundamental para o controle glicêmico destes pacientes com foco na manutenção constante do conteúdo energético, horário das refeições e no perfil nutricional, sendo portanto de extrema importância a prescrição de um alimento coadjuvante para cães diabéticos que minimizem as oscilações pós-prandiais da glicemia (CARCIOFI et al., 2008; FASCETTI et al., 2012; HAMDY & BARAKATUN-NISAK, 2016; TEIXEIRA et al., 2018; TESHIMA et al., 2021).

As oscilações na homeostase glicêmica e no metabolismo lipídico devido a deficiência de insulina resultam em diversas alterações metabólicas, sendo uma delas a hiperlipidemia, a qual está presente na maioria dos pacientes diabéticos e que até o presente momento, poucos estudos focaram nos efeitos do perfil e manejo alimentar no controle da lipidemia de cães diabéticos (ELLIOTT et al., 2011; OKI, 1995). Recentemente, um estudo publicado por nosso grupo de pesquisa (TEIXEIRA et al., 2020) demonstrou que fontes de amido de assimilação lenta apresentaram

bons resultados na redução da concentração de triglicérides e colesterol plasmáticos de cães diabéticos, sendo estes resultados muito relevantes devido à importância em se controlar a hiperlipidemia nesses casos e assim, diminuir as chances de desenvolvimento de afecções como pancreatite, doenças hepatobiliares, oftalmopatias, convulsão, lipoma e até mesmo aterosclerose (XENOULIS & STEINER, 2015). Portanto, o manejo dietético de um paciente diabético é parte importante da conduta terapêutica e é fundamental para diminuir as consequências relacionadas às alterações metabólicas resultantes da doença.

Os prebióticos são componentes alimentares funcionais que podem promover efeitos à saúde do trato gastrointestinal. Dentre eles estão os beta-glucanos (BG), compostos a base de fibras solúveis encontrados na parede celular de leveduras (MAGNANI & CASTRO-GÓMEZ, 2008), bactérias (ZHU et al., 2016) e na parede celular do endosperma de alguns cereais. As principais fontes dessa fibra são a aveia e a cevada, enquanto outros cereais como trigo e centeio apresentam baixa concentração (CLOETENS et al., 2012).

Os BG apresentam papel fundamental na modulação do sistema imunológico e, alguns estudos apontaram seus efeitos na glicemia e colesterolemia, cujo mecanismo de ação pode estar relacionado a formação de uma camada gelatinosa no intestino que diminui a absorção da glicose e dos lipídeos, o que evidencia possíveis efeitos benéficos para cães diabéticos (ANDRADE & ORLANDO, 2018; FERREIRA, 2016; MEJÍA et al., 2020).

## 2. CAPÍTULO I – REVISÃO NARRATIVA DA LITERATURA

De acordo com a *International Diabetes Federation* (IDF, 2019) no ano de 2000 a estimativa global de pessoas adultas diagnosticadas com diabetes era de 151 milhões. Em 2009, esta estimativa aumentou 88% (285 milhões de diagnósticos) e, em 2019 calculou-se que 9,3% (463 milhões) dos adultos com idade entre 20 a 79 anos tinham diagnóstico de DM e outros 1,1 milhão de crianças e adolescentes com menos de 20 anos tinham diabetes tipo 1, sendo, portanto, classificada como doença endócrina e metabólica ubíqua e emergente no século XXI. Na medicina veterinária, existem estimativas epidemiológicas de estudos retrospectivos, baseados em bancos de dados, que de certa forma podem subestimar a real prevalência do DMC. No Reino Unido, foi apontada a prevalência de 0,34% dos cães (MATTIN et al., 2014), na Itália de 1,33% (HOENIG, 2014) e no Brasil de 0,11% da população avaliada (PÖPPL & GONZÁLEZ, 2005).

A classificação do DMC ainda é bastante discutida devido a necessidade de melhor compreensão dos processos de doenças subjacentes na interface da diabetologia veterinária, tendo sido classificada como diabetes mellitus insulino-dependente (DMID) e diabetes mellitus não insulino-dependente (DMNID) no século XX e, como ocorreu na medicina humana, a nomenclatura foi substituída pelas terminologias tipo 1 e 2, respectivamente (FELDMAN, 2015; GILOR et al., 2016). Porém, atualmente não há critérios internacionalmente aceitos para esta classificação, devido ao fato de que a maioria dos cães necessitam de insulino-terapia no tratamento, além de se observar o aparecimento da doença na meia-idade (CATCHPOLE et al., 2008) e, apesar de evidências genéticas para autoimunidade, devido a identificação do antígeno leucocitário canino em cães diabéticos, se faz necessária a avaliação cautelosa, pois também foram encontrados estes antígenos em cães controle (DAVISON et al., 2003; GILOR et al., 2016). Além disso, segundo Denyer et al. (2020), nenhum haplótipo do antígeno leucocitário canino foi associado ao DMC. Há autores que classificam o DMC, baseado nos conceitos atribuídos pela medicina humana, como tipo *Latent Autoimmune Diabetes in the Adult* (LADA) devido à presença de anticorpos anti-insulina com início tardio e progressão lenta das

disfunções das células beta-pancreáticas (KENNEDY et al., 2006; O’KELL et al., 2022).

Em estudos epidemiológicos realizados nos Estados Unidos, Suécia e Reino Unido, as raças que apresentaram maior incidência no desenvolvimento do diabetes mellitus foram australian terrier, fox terrier, poodle miniatura, schnauzer miniatura, pug, samoieda, schnauzer standard, elkhound suíço, lapphund sueco e poodle toy. Por outro lado, american pit bull terrier, boxer, cocker spainel, collie, pastor alemão e golden retriever foram as raças de menor incidência no desenvolvimento desta endocrinopatia (FALL et al., 2007; HESS et al., 2000; MATTIN et al., 2014).

No Brasil, dados apontaram os animais sem raça definida como os cães com maior prevalência de DMC, seguidos dos poodles, cocker spaniels e labradores retrievers (Pöppel et al., 2017). Em todos os estudos epidemiológicos citados anteriormente, as fêmeas foram consideradas com maior potencial que os machos em desenvolver o diabetes e, as não castradas apresentaram maior risco.

## **2.1 HOMEOSTASE GLICÊMICA**

A glicose é a principal fonte de energia do organismo e é responsável pelo provimento de ATP tanto em condições aeróbicas como em condições anaeróbicas, é uma molécula polar e insolúvel na membrana plasmática e, em particular, o sistema nervoso central (SNC) a tem como principal fonte de energia para manutenção da homeostase metabólica. Portanto, a homeostase glicêmica é considerada fundamental para a manutenção das atividades bioquímicas do organismo (BELTRAME et al., 2015; FELDMAN, 2015; HIRSCH, 2015).

A normoglicemia em cães (60 até 100mg/dL) é mantida por meio da ação da insulina, que é um hormônio polipeptídico, cujo principal papel fisiológico é controlar a homeostase glicêmica por meio da inibição da liberação de glicose pelo fígado e da captação de glicose pelos tecidos sensíveis à insulina, como por exemplo o músculo esquelético e o tecido adiposo. Ações estas que evitam a hiperglicemia e, também, por meio de ações contrarregulatórias como a secreção do glucagon, adrenalina, cortisol, GH e da detecção das concentrações reduzidas de glicose pelos neurônios e células sensíveis à glicose localizados em regiões do SNC e periferia, com o objetivo de prevenir o desenvolvimento de hipoglicemia, por meio de: 1)



supressão da secreção endógena de insulina; 2) estímulo à produção endógena de glicose; 3) limitação da utilização periférica de glicose e, assim, previnem o desenvolvimento de hipoglicemia (AIRES, 2012; FELDMAN, 2015; McCRIMMON & SHERWIN, 2010; PAIVA, 2014; PÖPPL et al., 2021).

### **2.1.1AÇÕES REGULADORAS E CONTRARREGULADORAS DA HOMEOSTASE GLICÊMICA**

A secreção da insulina é estimulada por substratos energéticos metabolizáveis pelas células  $\beta$  das ilhotas pancreáticas, sendo a glicose o mais importante e que advém principalmente do componente alimentar ingerido. O transporte da glicose para dentro da célula  $\beta$  ocorre por meio dos transportadores de glicose 2 (GLUT-2) que detectam a elevação sérica da glicose e promovem por difusão facilitada a captação da mesma, isto é muito importante para o tratamento do DMC devido a correlação com o perfil nutricional do alimento que deve ser prescrito ao paciente com a finalidade de evitar hiperglicemia pós-prandial e assim, auxiliar no melhor controle glicêmico (AIRES, 2012; FELDMAN, 2015).

Devido ao fato das células  $\beta$  não apresentarem receptores para glicose, o GLUT-2 é o único receptor expresso na membrana destas células, mas também está presente em outros tecidos como fígado, rins e intestino. No entanto, difere do GLUT-4, presente no músculo e nos adipócitos, por ser insulino independente, ou seja, apresenta baixa afinidade pela glicose e possui alta capacidade de transporte, com Km de 15-20mM, aspecto que permite o aumento rápido do transporte de glicose com a elevação da glicemia (HABER et al., 2001).

Ao entrar na célula  $\beta$ , a glicose é fosforilada pelas enzimas hexoquinases, enzimas limitadoras que são inibidas pelo seu produto, a glicose-6-fosfato e, também pelas glicoquinases, as quais são ativadas pela insulina e assim aceleram a fosforilação da glicose. No entanto, as glicoquinases não são inibidas pelo seu produto, o que lhes confere atividade contínua e intensa nos momentos de altas concentrações plasmáticas de glicose. As glicoquinases são expressas somente nas células hepáticas, células  $\beta$ -pancreáticas, enterócitos e neurônios sensíveis à

glicose, desta forma se referem a recurso limitador de velocidade nas células  $\beta$  para síntese de insulina (PAIVA, 2014).

A insulina estimula a enzima glicogênio-sintase que leva à síntese e armazenamento do glicogênio e, por outro lado, inibe a glicogênio-fosforilase, diminuindo assim a glicogenólise. Na via glicolítica, a insulina ativa as enzimas fosfofrutoquinases, piruvato-quinases e piruvato-desidrogenases - levando à oxidação do piruvato na mitocôndria e, subsequentemente, a acetil-CoA entra no ciclo de Krebs e, resulta em aumento de nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADH) e flavina adenina dinucleotídeo (FADH<sub>2</sub>). Portanto, o metabolismo glicídico gera ATP e leva ao aumento da relação ATP/ADP e fechamento dos canais de potássio ATP dependentes, o que resulta na retenção de potássio. Como consequência, ocorre a despolarização parcial da membrana, devido à despolarização dos canais de cálcio (tipo L), ação essa que resulta no influxo de cálcio e aumento do cálcio intracelular, o qual por sua vez, ativa as enzimas adenilciclase, fosfolipase C (PLC), fosfolipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) e fosfolipase D (PLD) acopladas à proteína Gq. Logo, o cálcio se liga à calmodulina e ativa a proteinoquinase dependente de cálcio que leva assim, à exocitose dos grânulos de insulina a partir da fosforilação de componentes do citoesqueleto (AIRES, 2012; CURI, 2009).

Já as ações contrarregulatórias visam por meio da gliconeogênese manter a homeostase glicídica através da síntese de glicose a partir de compostos não-glicídicos (aminoácidos, lactato e glicerol) pela via glicolítica reversa, onde o glucagon leva a produção de p-enolpiruvato, a partir do piruvato, pela ativação das enzimas piruvato-carboxilase e p-enolpiruvato-carboxiquinase e, a etapa catalisada pela fosfofrutoquinase é revertida pela frutose-1,6-bifosfatase, logo a glicose-6-fosfato formada pode ser direcionada para a síntese de glicogênio (glicogênese) ou através da glicose-6-fosfatase, produzir glicose livre que passa para a circulação (BARBOSA & UEM, 2005; CURI, 2009; HABER et al., 2001).

No caso da ação contrarreguladora da adrenalina, ocorre a estimulação da produção da glicose por meio da glicogenólise e gliconeogênese, sendo limitada a utilização desta por meio de ações diretas e indiretas através de receptores  $\alpha$  e  $\beta$ -adrenérgicos (BARBOSA & UEM, 2005; MERY, 2008). Já em relação ao GH e ao cortisol, a manutenção da homeostase glicêmica por eles ocorre devido à elevação dos substratos que estimulam a gliconeogênese hepática (SILVA et al., 2014; WIDDOWSON et al., 2009).

### 2.1.2 MONITORAMENTO DA GLICEMIA NO DMC

O monitoramento clínico e ambulatorial da glicemia de um paciente é muito importante para a prevenção e diagnóstico de doenças decorrentes da variabilidade glicêmica, como por exemplo, o diabetes mellitus ou outras comorbidades que levam a hipoglicemia, tais como insulinooma, hipoadrenocorticismo, insuficiência renal e hepática (FELDMAN, 2015; FERREIRA et al., 2013; SANTOS, 2019).

Essas mensurações glicêmicas podem ser feitas por meio de aparelhos portáteis, os glicosímetros e, por análise laboratorial, porém é importante destacar que quando realizada por glicosímetros, estes devem ser validados para a espécie para obtenção de valores fidedignos dos índices glicêmicos (ARGOLLO et al., 2010). Segundo Aleixo et al. (2010), os glicosímetros apresentam diversos benefícios em relação aos aparelhos automatizados laboratoriais, pois são aparelhos portáteis, fáceis de manusear e que requerem pequena quantidade de sangue, sendo por isso bastante utilizados na rotina de atendimentos de cães diabéticos.

Logo, a mensuração sérica da glicose de pacientes com DM, quando realizada por aparelho validado, é utilizada de forma fidedigna para monitorar e avaliar a eficácia do tratamento, pois trata-se de um método de avaliação direta do estado do paciente (COOK, 2012). Alguns estudos publicados empregaram diferentes aparelhos validados para cães, sendo o *Medisense*®, *AC advantage*®, *AC performa*®, *Alpha Track*® e *Freestyle Optium Neo*® alguns deles (BLUWOL et al., 2007; KANG et al., 2016; SANTOS, 2019), além de estudos que também validaram para cães a utilização de sistemas de mensuração contínua de glicemia (SMCG) que consiste na avaliação de forma contínua da glicose intersticial por meio de um sensor, como por exemplo o *Medtronic Minimed CGMS Gold*® (MORI et al., 2013).

A variabilidade glicêmica é uma métrica importante para o controle do diabetes, porém é um parâmetro desafiador para ser analisado individualmente e sem correlação com as manifestações clínicas. Segundo Behrend et al. (2018), o diagnóstico do DM em cães é baseado na hiperglicemia persistente, glicosúria

persistente e na presença de sinais clínicos característicos, sendo portanto fundamental a análise de todos estes aspectos para o diagnóstico e, principalmente, para o monitoramento.

No diagnóstico do DMC, a hiperglicemia persistente deve ser considerada quando se tem excluído outras possibilidades etiológicas dos altos valores séricos de glicose, como por exemplo, a utilização de corticóides e a presença de doenças que levem à resistência insulínica, como nos casos de hipercortisolismo e obesidade (KLEINERT et al., 2018). Portanto, a determinação da glicemia é um parâmetro fundamental durante o diagnóstico, mas que deve ser analisado e correlacionado com as manifestações clínicas e outras comorbidades, sendo conseqüentemente fundamental para o tratamento e monitoramento do cão diabético (FELDMAN, 2015; HESS et al., 2003).

O último consenso de monitoramento para cães e gatos diabéticos publicado pela *American Animal Hospital Association* (AAHA) em 2018, destaca que a monitorização glicêmica realizada em casa pelos tutores é de extrema importância para o controle clínico do DMC. Portanto, a observação das manifestações clínicas associadas ao incentivo de manter um registro diário das glicemias, do apetite, da ingestão de água e da dose de insulina administrada é crucial para o monitoramento eficaz e, quando o paciente não apresenta alterações clínicas e o peso corporal está estável ou aumentado (dentro do desejável) temos como resultado o bom controle do DMC.

### **2.1.2.1 PROTEÍNAS GLICADAS**

As concentrações séricas de glicose tendem a variar, dependendo do tempo em que a coleta foi realizada, além de variações fisiológicas como o estado alimentado do paciente (jejum e período pós-absortivo) e situações de estresse. Por isso, a utilização de marcadores que indiquem períodos prolongados de controle glicêmico tem sido cada vez mais recomendados para o diagnóstico e acompanhamento do diabetes mellitus (DM), tanto em humanos quanto em animais (BELTRAME et al., 2015; SAKO et al., 2008).

A glicose se liga a várias proteínas que estão na circulação, criando desta forma proteínas glicadas, como por exemplo a hemoglobina glicada (HbA1c), que é

formada pela ligação irreversível da glicose ao grupo amino-terminal da hemoglobina e a frutossamina que é originada a partir da glicação das proteínas séricas totais, sendo de 2 a 3 meses o valor da concentração plasmática média para a hemoglobina glicada (KIM et al., 2019) e de 1 a 3 semanas para a frutossamina (BELTRAME et al., 2015; SAKO et al., 2008).

Segundo Kim et al. (2019), as concentrações de HbA1c de cães diabéticos em seu estudo foram significativamente maiores do que as de cães não diabéticos e, na maioria dos casos, a frutossamina e a HbA1c apresentaram forte correlação, podendo portanto ser um valioso parâmetro para avaliação do DMC pelos médicos veterinários. Porém, em um estudo recente concluiu-se que há correlação negativa entre diferentes parâmetros sanguíneos com a concentração de HbA1c e, que devem ser considerados para a interpretação da hemoglobina glicada, como por exemplo a contagem de eritrócitos, concentração de hemoglobina e hematócrito (NEUMANN, 2020). Desta forma, o emprego destes parâmetros deve ser melhor avaliado para serem aplicados com mais segurança para diagnóstico e monitoramento do DMC.

### **2.1.2.2 SANGUE CAPILAR DA EXTREMIDADE DISTAL DA CAUDA COMO ALTERNATIVA PARA MONITORAMENTO GLICÊMICO EM CÃES DIABÉTICOS**

As mensurações glicêmicas são necessárias para avaliar a eficácia da dose de insulina utilizada, assim como também a duração do efeito da insulina, nos trazendo informações sobre o controle glicêmico do paciente. No entanto, existem algumas limitações na obtenção deste parâmetro, como por exemplo, a “facilidade” do tutor em realizar a punção venosa em casa, por isso indica-se o monitoramento da glicemia domiciliar através do sangue capilar, por meio do uso de medidores portáteis validados (CASELLA et al., 2002).

Baseado na praticidade e boa correlação obtida em estudos que compararam a utilização do sangue capilar para avaliação da glicemia domiciliar com outros métodos, novos estudos que avaliem outros locais para mensuração glicêmica a partir de sangue capilar são necessários e podem ser de grande valia na prática clínica.

Sabe-se que os valores glicêmicos podem sofrer interferências de diversos fatores, como erros de aplicação da insulina, condições ambientais extremas,

alterações no hematócrito ou mesmo utilização de outros medicamentos. Desta forma, leituras equivocadas podem induzir a erros na conduta clínica, como por exemplo, alterações no manejo do paciente e na dose de insulina (ERBACH et al., 2016).

Nos casos de pacientes que apresentam anemia, evidenciada por diminuição do hematócrito, esta alteração pode superestimar os valores de glicemia obtidos pelo glicosímetro. Já nos casos de policitemia, pode ocorrer o contrário (valores subestimados) (WESS & REUSCH, 2000). Segundo Pitkin & Rice (2009), a hipoperfusão tecidual periférica pode resultar em aumento na disponibilização de glicose e resultar em valor de glicose mais baixo no sangue capilar, em comparação com o sangue venoso. Portanto, pacientes em estado crítico com hipotensão recomenda-se ter cuidado com a utilização de métodos portáteis não validados para evitar falsos valores de hipoglicemia. Os quadros de dislipidemia, por sua vez, resultantes do aumento de triglicérides, resultam em aumento da viscosidade sanguínea e conseqüente redução da concentração de glicose no volume capilar, tendo como conseqüência leituras errôneas de baixas concentrações de glicose no sangue capilar (ERBACH et al., 2016).

Além dos citados anteriormente, existem outros fatores que podem gerar interferências e que impactam nos valores glicêmicos obtidos. O tempo de coleta, a utilização de glicosímetros não validados para a espécie, o volume da amostra, a estabilidade das fitas glicêmicas, hemólise, acondicionamento da amostra, estado alimentar do paciente e amostra sanguínea utilizada, seja de sangue venoso, arterial ou sangue capilar (ERBACH et al., 2016). Desta forma, todos estes pontos devem sempre ser considerados no momento da interpretação dos resultados.

## **2.2 METABOLISMO LIPÍDICO**

Os lipídios são compostos orgânicos insolúveis em água e solúveis em certas substâncias orgânicas, como éter, álcool e acetona. São moléculas compostas de carbono, oxigênio e hidrogênio (BAUER, 1996; CURI, 2009). Além disso, são componentes das membranas celulares e armazenam energia, além de desempenharem papéis importantes como cofatores enzimáticos, hormonais e intracelulares (AIRES, 2012; GINSBERG, 1998).

Do ponto de vista clínico, existem três grupos de lipídios muito importantes para a manutenção do metabolismo lipídico e que interferem diretamente nas vias metabólicas do organismo: ácidos graxos, esteróis (especificamente o colesterol) e os acilgliceróis (principalmente os triglicerídeos) (GINSBERG, 1998). Os ácidos graxos são compostos simples, menores e que compõem outros lipídios, eles têm função de fornecer energia e transportar gordura do fígado para outros tecidos. Já o colesterol é o principal esteroide dos tecidos animais, sendo a ingestão de alimentos a principal fonte. Todavia, também podem ser sintetizados pelo fígado e outros tecidos e desempenham papel importante no metabolismo dos ácidos biliares e na síntese dos hormônios esteroides e da vitamina D, enquanto os triglicerídeos são os mais comuns e a mais eficiente forma de armazenar energia dos mamíferos, mas podem ser também produzidos pelo fígado ou provindos da dieta (AIRES, 2012; CATANOZI, 2015; JOHNSON, 2005).

Devido a propriedade dos lipídios de serem insolúveis em água, não podem ser transportados em soluções como o plasma, portanto, para que isso aconteça, formam-se complexos macromoleculares chamados de lipoproteínas (WATSON & BARRIE, 1993).

### **2.2.1 LIPOPROTEÍNAS CANINAS (LPs)**

As principais lipoproteínas presentes no plasma de cães diferem quanto ao seu tamanho, densidade, mobilidade eletroforética, composição lipídica e apolipoproteínas presentes na molécula, sendo elas: 1) Os quilomícrons, que são as maiores lipoproteínas e apresentam diâmetro entre 75-1200nm (com densidade menor que 0,95g/mL) e são importantes para o transporte dos lipídeos dietéticos absorvidos no intestino delgado para a circulação sanguínea. Apresentam em sua constituição as apolipoproteínas B 48, A, C, E e, os triglicerídeos correspondem a 90% da sua composição; 2) As VLDLs (*very-low-density lipoproteins*) tem diâmetro entre 26-80nm (com densidade menor que 1,006g/mL) e são responsáveis pela exportação de colesterol e triglicerídeos do fígado para a circulação, além de garantirem a distribuição de triglicerídeos para o tecido adiposo corporal e para os músculos estriados. Apresentam em sua constituição as apolipoproteínas B100, C e E; os principais constituintes destas LPs são os triglicerídeos (cerca de 62% da sua

composição); 3) LDLs (*low-density lipoproteins*) possuem diâmetro entre 16–25nm (com densidade menor que 1,019g/mL) e tem a função de distribuir colesterol para os tecidos periféricos. Apresentam na sua constituição a apolipoproteína B100 e apresentam 42% de colesterol na sua composição; 4) HDLs (*high-density lipoproteins*): possuem a função de fazer o transporte reverso do colesterol (da circulação) para o fígado. Na espécie canina, foram identificados dois tipos: HDL1 e a HDL3. As primeiras, apresentam as apolipoproteínas A, E e C; diâmetro de 10-35nm e densidade de 1,025-1,100g/mL. As HDL-3 são constituídas pelas apoproteínas A e C; diâmetro de 5-9nm e densidade de 1,100-1,210g/mL (BARRIE, 1993; MAHLEY et al., 1984; XENOULIS & STEINER, 2010; XENOULIS & STEINER, 2015).

### **2.2.2 DIGESTÃO E METABOLIZAÇÃO DOS LIPÍDIOS**

O processo de digestão das gorduras é mais simples devido a necessidade de menor quantidade de enzimas em comparação aos macronutrientes. Todavia, o processo de absorção é mais complexo devido a lipossolubilidade, por isso depende da emulsificação realizada pelos sais biliares e da hidrólise enzimática (pelas lipases gástricas e pancreáticas) que geram os ácidos graxos e monogliceróis. Estes metabólitos são solúveis e assim, formam as micelas para serem absorvidos, reesterificados e agrupados em moléculas transportadoras de gorduras pelo sistema linfático até o sangue (AIRES, 2012; CURI, 2009; GINSBERG, 1998). O metabolismo das gorduras pode ser classificado em via endógena, na qual ocorre a metabolização dos lipídeos produzidos no próprio organismo animal, por meio das VLDLs, LDLs e HDLs; e via exógena, relacionada aos lipídeos que advém da dieta, através dos quilomícrons (XENOULIS & STEINER, 2010).

Na via exógena, a gordura dietética é digerida no intestino delgado e incorporada nos quilomícrons que são transportados pelo sistema linfático até chegarem na circulação, através do ducto torácico. A partir daí as partículas adquirem as apolipoproteínas E e C, assim originam as lipoproteínas de alta densidade, os quilomícrons, estes são conduzidos até o fígado onde ocorre interação com as lipoproteínas-lipases, localizadas nas membranas basais das células endoteliais dos capilares de alguns tecidos (principalmente tecido adiposo e



muscular). Estas enzimas atuam na hidrólise dos triglicerídeos em monoglicerol, diglicerol, glicerol e ácidos graxos livres que serão posteriormente convertidos em energia, quando necessária, nos músculos e como reserva energética no tecido adiposo. Os quilomícrons remanescentes (também chamados de IDL- *intermediary-density lipoproteins*), no momento com alto teor de colesterol, ao alcançarem o fígado serão utilizados como fonte de colesterol para a síntese de ácidos biliares, VLDLs ou estoque de colesterol esterificado (BAILHACHE et al., 2004; MAHLEY et al., 1984; XENOULIS & STEINER, 2010).

Já na via endógena, as lipoproteínas VLDLs são sintetizadas no fígado e tem como função transportar os triglicerídeos e colesterol endógenos para os tecidos, sendo que quanto maior a captação hepática de lipoproteínas remanescentes da via exógena ou oriundas da lipólise, maiores serão os estímulos para a síntese de VLDLs. No período não-absortivo, momento no qual ocorre aumento da lipólise para fornecimento de energia para outros tecidos, as VLDLs são mais eficientes em transportar os ácidos graxos oriundos da lipólise do tecido adiposo devido o limite neste transporte pela albumina. Os quilomícrons remanescentes ao chegarem no fígado podem ser catabolizados ou terem seu conteúdo de triglicerídeos e fosfolipídeos metabolizados pelas lipoproteína-lipases hepáticas, o que resulta no aumento do colesterol no seu interior e conseqüente aumento da sua densidade. Em humanos, nessa etapa as IDLs passam a ser LDLs, porém nos cães não há evidência da existência das IDLs, logo as VLDLs remanescentes são transformadas em LDLs (CATANOZI, 2015; WATSON & BARRIE, 1993; XENOULIS & STEINER, 2010).

As LDLs possuem elevada concentração de colesterol e fosfolipídios em sua composição e são importantes fontes de colesterol utilizado na constituição das membranas celulares ou servir de substrato para a síntese hormonal de diversos tecidos. Por isso, as LDLs são conhecidas como "mau colesterol", devido ao fato de estarem associadas ao desenvolvimento de placas de aterosclerose (CATANOZI, 2015; XENOULIS & STEINER, 2010). Segundo Hess et al. (2003), os cães parecem ser resistentes devido a composição e o metabolismo de suas lipoproteínas, porém em seu estudo foi relatado aterosclerose espontânea associada a hipercolesterolemia secundária devido a endocrinopatias em 60% dos 30 cães com hipotireoidismo e 20% dos que tinham DMC.

Enquanto as lipoproteínas HDLs, que realizam a captação reversa do colesterol e são conhecidas como "bom colesterol", auxiliam na minimização da

possibilidade de deposição de colesterol nas paredes das artérias, além de promoverem a transferência de apolipoproteínas, como a apoproteína-CII (Apo – CII) para outras lipoproteínas, como por exemplo o quilomícron, proporcionam assim a metabolização desta poliproteína pelas lipases lipoprotéicas (BAUER, 1996; BEITZ, 2015; XENOULIS & STEINER, 2015). As HDLs encontradas nos cães são as HDL1 e HDL3 e, diferem entre si em função da concentração de colesterol captado nos tecidos periféricos (XENOULIS & STEINER, 2010). Nos cães, devido à baixa atividade da enzima CETP (*cholesterol ester transfer protein*), enzima responsável pela transferência de colesterol das HDLs para as LDLs e VLDLs (XENOULIS & STEINER, 2010), ocorre maior captação de colesterol pelas HDLs, ação relacionada a maior formação de HDL1 e consequente perfil lipoprotéico composto majoritariamente por HDLs (MAHLEY et al., 1974), aspecto que pode justificar a menor incidência de aterosclerose em cães quando comparado aos seres humanos.

### **2.3 DIABETES MELLITUS E DISLIPIDEMIA**

Segundo Xenoulis & Steiner (2010), a dislipidemia ou hiperlipidemia é definida como o aumento na concentração de triglicerídeos séricos (hipertrigliceridemia) ou de colesterol sérico (hipercolesterolemia) ou ambos. A dislipidemia pode ser classificada em: 1) dislipidemia primária, a qual geralmente está relacionada a distúrbio genético do metabolismo das lipoproteínas, cuja origem ainda é desconhecida, mas pode ser associada a defeitos genéticos nas lipases-lipoprotéicas ou à ausência de Apo-CII, como por exemplo a relatada em cães da raça Schnauzer miniatura (BODKIN, 1992; XENOULIS et al., 2011; XENOULIS & STEINER, 2010); 2) dislipidemia secundária, que é a mais comum e advém de doenças endócrinas como hipotireoidismo, hipercortisolismo e o diabetes mellitus (JOHNSON, 2005; SIEBER-RUCKSTUHL et al., 2019); 3) dislipidemia pós-prandial que é caracterizada pelo aumento da concentração sérica dos lipídeos durante o período absorptivo que se revolve em sete a 12 horas após o fim da refeição (XENOULIS & STEINER, 2015). Este tempo é, entretanto, questionável devido a escassez de estudos que delimitam o que é considerado como normal no animal saudável no período pós-prandial. Alguns autores apontaram, inclusive, que 12 horas

não são suficientes para a diminuição máxima da concentração sérica de lipídeos (ELLIOTT et al., 2012).

Por se tratar de uma afecção que geralmente é assintomática, seu diagnóstico é desafiador. Portanto, considera-se ideal a realização de exames de *check-up* com frequência, principalmente nas raças predispostas para que seja feito o tratamento em tempo adequado (DE MARCO et al., 2017; XENOULIS & STEINER, 2010). É importante ressaltar que esse distúrbio metabólico pode favorecer o desenvolvimento de pancreatite (COOK et al., 1993; XENOULIS et al., 2020), resistência insulínica (OKI, 1995; XENOULIS et al., 2011), doenças hepatobiliares (AGUIRRE et al., 2005) e oftalmopatias (CRISPIN, 1993).

A partir do conhecimento sobre a fisiopatogenia da hiperlipidemia e a possibilidade do desenvolvimento da resistência insulínica, é importante realizar o tratamento de pacientes diabéticos em virtude das possíveis implicações sobre o controle glicêmico (XENOULIS et al., 2011). A insulina, hormônio deficiente nestes pacientes, estimula a expressão de uma família de fatores de transcrição chamada SREBP (*sterol regulatory element-binding proteins*), os quais ativam a expressão de genes que sintetizam e captam colesterol, ácido graxo, triglicerídeos e fosfolipídeos, atuantes na lipogênese durante a hiperlipidemia pós-prandial (CARVALHEIRA et al., 2002). Além disso, a presença destas proteínas regulatórias proporcionam a inibição da lipólise nos adipócitos por ativação da lipase hormônio sensível (ANTHONSEN et al., 1998).

A insulina também estimula a ação da enzima lipase lipoprotéica, a qual catalisa a hidrólise dos triglicerídeos dos quilomícrons e das VLDLs na superfície endotelial dos capilares sanguíneos, enquanto que as lipoproteínas ricas em triglicerídeos ligam-se à lipase por meio da Apo-CII presente na superfície da lipoproteína. Os produtos da degradação dos triglicerídeos, ácidos graxos e glicerol são, portanto, absorvidos por tecidos, como o tecido adiposo e muscular, e são reesterificados e armazenados como reserva energética (ALMEIDA et al., 2007; XENOULIS & STEINER, 2015).

Em resumo, nos pacientes com DMC, a deficiência ou ausência de insulina reduz a captação de glicose pelos tecidos insulino-dependentes, o que estimula o *feedback* para ativar as vias de lipólise e inibição da lipogênese, assim como no jejum e, então, ocorre aumento de lipídeos circulantes, ou seja, hiperlipidemia nos cães diabéticos (OKI, 1995; XENOULIS & STEINER, 2010).

Mais estudos são necessários para definir melhor a conduta terapêutica para estes pacientes. Em seres-humanos, os estudos relatam modificações no metabolismo lipídico com o aumento das VLDLs e LDLs, redução de HDLs em resposta à baixa atividade da enzima lipase lipoprotéica, além da menor captação de VLDLs e de IDLs em razão das modificações das apolipoproteínas de superfície das VLDLs e maior síntese de VLDLs hepáticas (OKI, 1995).

Segundo revisão de Welthy (2020), nos seres humanos temos interferência da dieta na gênese da dislipidemia, já que foi observado que a alta inclusão de carboidratos aumentou o risco de doença cardiovascular, ao passo que a inclusão de gordura saturada não, apesar de aumentar as concentrações de LDLs. Portanto, novas alternativas terapêuticas para cães diabéticos são importantes, uma vez que a maioria dos estudos com cães hiperlipidêmicos são relacionados a doença endócrina de base, como o observado no estudo de Teixeira et al. (2020), por exemplo, onde concluiu-se que fontes de amido de lenta assimilação apresentaram bons resultados na redução da concentração de triglicérides e colesterol plasmáticos de cães diabéticos.

Baseado no grau de dislipidemia e eficácia terapêutica dietética, novos tratamentos farmacológicos já foram estudados em cães e trouxeram boas respostas em relação aos quadros de hiperlipidemia canina, como observado no estudo de Crakes et al. (2021) ao utilizarem durante três semanas o fenofibrato. Os autores observaram redução das concentrações das citocinas IL-8, TNF- $\alpha$ , dos triglicerídeos e também da glicemia intersticial em jejum. De Marco et al. (2017) relataram o uso de bezafibrato em cães com hiperlipidemia primária e secundária durante 30 dias. Os autores observaram redução de 91,3% na concentração sérica de triglicerídeos e 66,7% na de colesterol, sem efeitos colaterais.

## **2.4 BETA-GLUCANOS**

Atualmente vários estudos têm relatado os benefícios das fibras dietéticas, que vão desde a melhora da saúde intestinal até efeitos na redução da pressão arterial (JALILI ET AL., 2016), redução do apetite (WANDERS et al., 2011) e das

concentrações séricas de LDL e colesterol em humanos (ANDERSON et al., 2000; SOLIMAN, 2019).

A fermentação parcial ou total das fibras pode ser utilizada como fonte de energia pela microbiota intestinal após serem convertidas em gases e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), principalmente acetato, propionato e butirato (BERNAUD & RODRIGUES, 2013; CUMMINGS et al., 2001)

Os BG são fibras dietéticas que são constituídas por um esqueleto linear central de unidades de glicose com ligações em posição  $\beta(1-3)$ , com cadeias laterais de glicose que apresentam diferentes tamanhos. Estas são unidas em  $\beta(1-4)$ , nos casos dos BG de cereais (MEJÍA et al., 2020), enquanto nas demais fontes de BG ocorrem ligações em  $\beta(1-6)$ (ROP et al., 2009). Essas diferenças estruturais proporcionam peculiaridades nas ações de cada tipo de BG, variando desde sua conformação, densidade molecular, solubilidade e no grau de posicionamento das cadeias laterais (ANDRADE & ORLANDO, 2018).

Os BG de cereais, encontrados em aveia e cevada, apresentam ligações  $\beta$ -1,3-1,4-D-glucanos, são menos ramificados e com menor polimerização, sendo assim caracterizados como solúveis. Os BG de bactérias apresentam ligações  $\beta$ -1,3-glucanos lineares; já os BG de leveduras e macrofungos apresentam ligações  $\beta$ -1,3-1,6-D-glucanos, ou seja, maior polimerização e maior número de radicais, sendo, portanto, considerados insolúveis. Por sua vez, os de leveduras têm cadeias longas de  $\beta$ -1,6 (por exemplo: *Sacharomyces cerevisiae* ) e os de macrofungos tem cadeias curtas de  $\beta$ -1,6 (MANTOVANI et al., 2008; MIRONCZUK-CHODAKOWSKA et al., 2021; ROP et al., 2009).

Os BG de baixo peso molecular são geralmente inativos, já os de peso intermediário tem ações biológicas mais eficazes *in vitro*, enquanto que em nível celular tem baixa eficácia. Já os BG de alto peso molecular apresentam ações sobre os leucócitos, estimulam a fagocitose e atividade antimicrobiana (AKRAMIENÉ et al., 2007), como por exemplo os da aveia que já demonstraram seus efeitos antimicrobianos contra *E.coli*, *B. subtilis* (MIN et al., 2005), *Candida albicans* e também antiparasitário contra o *Toxoplasma gondii* (ESTRADA et al., 1997). Além disso, estes possuem características benéficas no metabolismo dos lipídeos e redução dos índices glicêmicos em humanos (ANDRADE & ORLANDO, 2018; CLOETENS et al., 2012),

Os BG de origem fúngica mostraram efeitos benéficos na fase pré-inflamatória por ativar o sistema complemento, o que pode indicar que os BG são moduladores da resposta inflamatória por meio das interleucinas e mediadores inflamatórios que promovem a ativação dos macrófagos (AKRAMIENÉ et al., 2007; ROP et al., 2009) e também apresentam efeito antitumoral por suprimir a proliferação e promover a apoptose de células tumorais (XU et al., 2017).

#### **2.4.1 MECANISMO DE AÇÃO DOS BETA-GLUCANOS**

Após a ingestão oral dos BG de levedura, estes passam lentamente para o duodeno onde se ligam aos receptores dos macrófagos presentes na parede intestinal e promovem a produção de compostos bactericidas como lisozimas, radicais livres e óxido nítrico, assim como a ativação da transcrição celular de citocinas que ativam os leucócitos fagocitários circulantes e, dessa forma, produzem resposta local e sistêmica no organismo de forma a exercer seu efeito imunomodulador característico (GELLER & YAN, 2020; ROP et al., 2009; VETVICKA & VETVICKOVA, 2007). Já em relação aos mecanismos envolvidos no metabolismo dos lipídeos e da glicose, acredita-se que pode haver a formação de ácidos graxos de cadeia curta (principalmente butirato), que resultaria na redução da digestibilidade da gordura (DE SOUZA THEODORO et al., 2019; PARK et al., 2017). Todavia, um estudo realizado por nosso grupo de pesquisa, em gatos, não apontou redução da digestibilidade do extrato etéreo do alimento avaliado em função da inclusão de 0,1% do mesmo produto comercial avaliado no presente trabalho (RISOLIA, 2021).

Em relação aos seus efeitos sobre a secreção de insulina e sobre o índice glicêmico, os BG podem induzir a formação de uma camada gelatinosa devido à sua alta viscosidade em solução. Esta, por sua vez, poderia resultar na redução da absorção de glicose e de ácidos graxos pelos enterócitos, contribuindo desta forma para a redução das concentrações de colesterol e da glicemia após a refeição (MENDES et al., 2010), informações apontadas em estudos com seres humanos (KIM et al., 2009), ratos (ARAUJO, 2014) e cães saudáveis (FERREIRA et al., 2018).

Em estudo realizado por Nicolosi et al. (1999), os autores avaliaram os efeitos da ingestão de BG de levedura adicionado ao suco de laranja de homens obesos

com hipercolesterolemia. Os resultados apontaram redução significativa no colesterol total e redução de 8,0% nas concentrações séricas das LDLs, após 8 semanas de consumo. Já em estudo realizado com cães obesos, também foi relatada a redução da glicose plasmática basal e média, além da diminuição da insulina basal e das concentrações séricas de triglicérides e colesterol dos cães obesos, neste estudo com cães obesos utilizou-se o mesmo tipo de beta-glucanos avaliado no presente trabalho (FERREIRA et al., 2022).

Zhu et al. (2016) publicaram uma revisão com mais de 100 referências citadas, onde os autores apontaram resultados promissores de experimentos clínicos em humanos com o uso de BG, tais como: melhora na cicatrização de feridas, terapias antitumorais, atividade anti-inflamatória, além do grande potencial como espessante ou estabilizador em produtos alimentícios. Já na revisão de Cloetens et al. (2012), mais de 40 artigos atribuíram o aumento da viscosidade do conteúdo intestinal como o possível mecanismo benéfico do uso dessas fibras na dieta, levando ao aumento da saciedade e grande parte dos estudos demonstraram diminuição das concentrações séricas de glicose e insulina em pessoas saudáveis e com alterações metabólicas.

Os trabalhos encontrados com cães corroboram a hipótese de todos estes benefícios mencionados, como apresentados no quadro 01, mas é válido ressaltar que não existem estudos que relatem os possíveis efeitos hipoglicemiantes e hipolipemiantes dos BG em cães com diabetes natural.

**Quadro 1:** Estudos publicados na literatura que avaliaram a suplementação de beta-glucanos extraídos de leveduras em diferentes espécies.

Autor/ Ano	Título	OBJETIVO	DOSE	DURAÇÃO	RESULTADOS
Ferreira et al.( 2022)	Metabolic variables of obese dogs with insulin resistance supplemented with yeast beta-glucan.	Avaliar os efeitos de uma dieta formulada com 0,1% de beta-glucanos na glicemia, homeostase lipídica, citocinas inflamatórias e saciedade em cães obesos.	15mg/kg/dia	90 dias	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Menores valores glicêmicos basais;</li> <li>✓ Redução do colesterol sérico e concentrações de triglicerídeos;</li> <li>✓ Menor concentração circulante de TNF-<math>\alpha</math>;</li> <li>✓ Aumento de GLP-1 sérico.</li> </ul>
Zhen et al. (2021)	Yeast $\beta$ -Glucan Altered Intestinal Microbiome and Metabolome in Older Hens.	Avaliar os efeitos da suplementação de beta-glucanos de levedura no microbioma intestinal e perfis de metabólitos em galinhas reprodutoras.	200mg/kg/dia	9 semanas	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ <i>Down regulation</i> induzida por beta-glucanos na expressão de receptores <i>toll-like</i> (TLRs) e expressão de genes de citocinas no íleo sem qualquer efeito sobre a barreira intestinal;</li> <li>✓ Enriquecimento relativo da classe Bacilli, ordens Lactobacillales e Enterobacteriales no intestino.</li> </ul>
Cao et al. (2017)	Orally Administrated Baker's Yeast beta-Glucan Promotes Glucose and Lipid Homeostasis in the Livers of ob/ob Mice.	Avaliar a administração por via oral de beta-glucanos de levedura na homeostase glicêmica e lipídica no fígado de camundongos obesos.	25mg/kg/dia	4 semanas	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Redução da glicemia;</li> <li>✓ Observou-se regulação positiva sobre p-AKT e p-AMPK, e p-Acc regulado de forma negativa (fígado);</li> <li>✓ Regulação negativa dos genes responsáveis pela gliconeogênese (G6pase e Got1), biossíntese de ácidos graxos (Acl, Acc, Faa), síntese de glicerolipídios (Gpm e Lipin1/2) e síntese de colesterol (Hmgcr, Fdps);</li> <li>✓ Diminuição dos transportadores de glicose SGLT1 e GLUT2, emulsificação de gordura e genes adipogênicos.</li> </ul>



Shitleni et al. (2016)	Effects of yeast polysaccharide on biochemical indices, antioxidant status, histopathological lesions and genetic expressions related with lipid metabolism in mice fed with high fat diet.	Avaliação dos efeitos do polissacarídeo de levedura (BGY) em camundongos alimentados com dieta rica em gordura (15%).	250mg/kg/dia e 450mg/kg/dia	7 semanas	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ A administração de BG de levedura (em ambas as doses) diminuiu o ganho de peso, ingestão alimentar, concentrações de LDL, triglicérides, ALT, AST, além de diminuir os depósitos de gordura no fígado e o quadro de esteatose hepática.</li> </ul>
Cao et al. (2016)	Hypoglycemic activity of the Baker's yeast $\beta$ -glucan in obese/type 2 diabetic mice and the underlying mechanism.	Investigar o efeito do uso de beta-glucanos em distúrbios metabólicos em camundongos DIO/T2D.	50mg/kg/dia	80 dias	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Diminuição da glicemia através da supressão da expressão de SGLT-1 na mucosa intestinal;</li> <li>✓ Promoveu a síntese de glicogênio;</li> <li>✓ Inibiu o acúmulo de gordura no fígado e infiltração de macrófagos deprimidos e produção de citocinas pró-inflamatórias determinados por imunohistoquímica e ELISA.</li> </ul>
De Oliveira Silva et al. (2015)	$\beta$ -Glucans ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ) reduce glucose levels and attenuate alveolar bone loss in diabetic rats with periodontal disease.	Avaliar os efeitos da ingestão oral de $\beta$ -glucanos isolados de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> sobre o perfil metabólico, expressão de marcadores inflamatórios gengivais e quantidade de perda óssea alveolar em camundongos diabéticos com doença periodontal.	30mg/kg/dia	28 dias	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Redução da glicemia, concentrações de colesterol e triglicérides em animais diabéticos com e sem doença periodontal;</li> <li>✓ O tratamento com beta-glucanos reduziu a expressão da ciclooxigenase-2 e do receptor ativador do fator nuclear ligante kappa-B;</li> <li>✓ Aumento da expressão de osteoprotegerina em animais com diabetes e doença periodontal.</li> </ul>

Graubaum et al. (2012)	A double-blind, randomized, placebo-controlled nutritional study using an insoluble yeast beta-glucan to improve the immune defense system.	Avaliar o efeito de um preparado de beta-glucanos de levedura insolúvel na incidência de resfriados em seres humanos e seu efeito nos sintomas.	900mg/dia	26 semanas	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ O grupo beta-glucanos apresentou maior número de indivíduos sem resfriado do que o grupo placebo (15,6% vs 2,0%);</li> <li>✓ O grupo beta-glucanos teve menor frequência de infecções em comparação ao placebo.</li> </ul>
------------------------	---	---	-----------	------------	---

### 3. CAPÍTULO II: EFEITOS DOS BETA-GLUCANOS NA GLICEMIA E LIPIDEMIA DE CÃES DIABÉTICOS

Os beta-glucanos (BG) são fibras dietéticas encontradas na parede celular de fungos, cogumelos e leveduras (MIRONCZUK-CHODAKOWSKA et al., 2021; ROP et al., 2009), podendo ser encontrados também em alguns cereais como aveia, centeio e cevada (GIMENES et al., 2020) e, também na estrutura de algumas bactérias (ANDRADE & ORLANDO, 2018).

São prebióticos amplamente estudados pela sua atividade imunomoduladora e apresentam efeitos sobre o metabolismo dos carboidratos e lipídeos em humanos e ratos (ANDRADE & ORLANDO, 2018; BEYNEN et al., 2011; CLOETENS et al., 2012; GIMENES ET AL., 2020).

Os efeitos benéficos das fibras dietéticas sobre o metabolismo dos lipídeos já foram elucidados em alguns estudos como por exemplo o de Brown et al. (1999), no qual as fibras solúveis como pectina, *psyllium*, goma guar e farelo de aveia mostraram-se eficazes na redução do colesterol total e LDL, enquanto que estudos realizados com pacientes diabéticos alimentados com dieta rica em fibras solúveis por seis semanas apresentaram efeitos expressivos na redução dos triglicérides (CHANDALIA et al., 2000). Já em relação ao efeito hipoglicemiante, um estudo apontou retardo do esvaziamento gástrico decorrente de uma dieta rica em fibras e, que por sua vez, resultou em redução da glicemia (BATTILANA et al. 2001).

Considerando que o diabetes mellitus canino é uma afecção que culmina em quadros de hiperglicemia persistente e dislipidemia, os beta-glucanos apresentam potenciais nutraceuticos que podem ser utilizados como terapia adjuvante com intuito de promover o controle glicêmico e lipidêmico deste pacientes.

### **3.1 HIPÓTESE**

A suplementação dietética de beta-glucanos para cães diabéticos será capaz de reduzir as concentrações séricas de metabólitos lipídicos (colesterol e triglicerídeos) e diminuir a glicemia, assim como melhorar o controle glicêmico do paciente.

### **3.2 OBJETIVOS**

#### **3.2.1. PRINCIPAL**

Avaliar os efeitos dos beta-glucanos nas concentrações séricas de metabólitos lipídicos e glicêmicos de cães naturalmente diabéticos.

#### **3.2.2. ESPECÍFICOS**

Avaliar e comparar o controle glicêmico de cães diabéticos suplementados com beta-glucanos com os resultados do grupo sem suplementação;

Avaliar e comparar o controle lipidêmico de cães diabéticos tratados com suplementação dietética de beta-glucanos e dieta controle sem suplementação;

### **3.3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.3.1 PACIENTES DO ESTUDO**

Este é um ensaio clínico prospectivo longitudinal, randomizado, com delineamento inteiramente casualizado duplo cego, conduzido de acordo com os princípios éticos de experimentação animal e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA Nº 9675070219) e com autorização dos proprietários dos cães conforme o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido disponibilizado. O tamanho amostral mínimo foi calculado por meio do programa estatístico Action<sup>1</sup>. As variáveis utilizadas para o cálculo foram os valores médios de glicemia, área abaixo da curva de glicemia e frutossamina sérica, com base no estudo de Teshima et al. (2021) e trigliceridemia, com base no estudo de Teixeira et al. (2018). Desta forma, foram necessários no mínimo 14 cães diabéticos inclusos no estudo para adequada análise estatística dos dados.

Os animais foram selecionados na rotina do Serviço de Nutrologia do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (HOVET – FMVZ/ USP). Os critérios de inclusão adotados foram: cães diabéticos, fêmeas castradas ou machos, de faixas etárias variadas, sem outras afecções concomitantes, com escore de condição corporal (ECC) entre 4 e 6, pela escala de 9 pontos (LAFLAMME, 1997). Após a confirmação diagnóstica do DMC foi realizada coleta de sangue para exames laboratoriais de hemograma, concentração sérica de colesterol, triglicerídeos, creatinina, ureia, proteína total, albumina e, para avaliação da atividade sérica das enzimas alaninoaminotransferase (ALT) e fosfatase alcalina (FA), além de exame de urina e ultrassonografia abdominal para descartar possíveis doenças subjacentes.

#### **3.3.2 DIETA EXPERIMENTAL**

---

<sup>1</sup> Equipe Estatcamp (2014). Software Action. Estatcamp – Consultoria em estatística e qualidade, São Carlos/SP, Brasil.

O alimento Premier Nutrição Clínica Diabetes Cães foi o fornecido aos animais, o qual foi formulado e extrusado na unidade fabril da empresa PremierPet®, localizada em Dourado - SP. A formulação deste alimento compreende baixa inclusão de amido, sendo este fornecido pelos ingredientes ervilha, cevada e uma combinação de fibras que auxiliam no controle glicêmico, além de alta inclusão de proteína e moderada gordura que auxiliam na manutenção da massa muscular e do peso corporal ideal. Na Tabela 1 está apresentada a composição química e lista de ingredientes do alimento empregado no estudo.

**Tabela 1.** Composição química do alimento<sup>1</sup> utilizado no estudo.

Umidade (máx.)	10,00%
Proteína bruta (mín.)	34,00%
Extrato etéreo (mín.)	14,00%
Matéria mineral (máx.)	7,00%
Amido (máx.)	19,00%
Matéria fibrosa (máx.)	9,00%
Cálcio (máx.)	1,40%
Cálcio (mín.)	0,80%
Fósforo (mín.)	0,60%
Sódio (mín.)	0,35%
Potássio (mín.)	0,60%
Ômega-6 (mín.)	2,20%
Ômega-3 (EPA+DHA) (mín.)	0,40%
Taurina (mín.)	0,12%
Energia metabolizável	3.550 kcal/kg

#### **Ingredientes**

Farinha de vísceras de frango, glúten de trigo, proteína isolada de suíno, plasma suíno em pó, ovo desidratado, farinha de ervilha, cevada, quirera de arroz, celulose, polpa de beterraba, gordura de frango, óleo de peixe, hidrolisado de suíno e frango, ácido propiônico, antioxidante BHA, cloreto de potássio, cloreto de sódio, extrato de yucca, frutoligossacarídeos, gelatina hidrolisada (2,5%), L-carnitina, levedura seca de cervejaria, parede celular de levedura (fonte de MOS), taurina, vitamina A, vitamina B12, vitamina C, vitamina D3, vitamina E, vitamina K3, ácido fólico, ácido pantotênico, biotina, cloreto de colina, niacina, piridoxina, riboflavina, tiamina, ferro aminoácido quelato, iodeto de potássio, manganês aminoácido quelato, proteinato de selênio, sulfato de cobre, sulfato de ferro, sulfato de zinco, sulfato de manganês, zinco aminoácido quelato, cobre aminoácido quelato.

<sup>1</sup>Premier Nutrição Clínica Diabetes Cães (Premier Pet®). Máx.: Teor máximo; Mín.: Teor mínimo.

A suplementação de 0,1% de MacroGard<sup>®2</sup>, o qual é composto por 60% de beta-1,3/1,6- glucanos de leveduras, foi realizada por meio da administração de cápsulas por via oral uma vez ao dia, pois a formulação manipulada individual para cada paciente mostrou-se mais prática para a realização do estudo. Para os controles, o alimento Premier Nutrição Clínica Diabetes Cães foi triturado e encapsulado para fornecimento da mesma forma.

### 3.3.3 ESTABILIZAÇÃO DO PACIENTE

De acordo com o *guidelines* para manejo e tratamento de diabetes em cães e gatos (BEHREND et al., 2018), todos os animais passaram por período de estabilização da doença, onde receberam o alimento coadjuvante antes do início do protocolo experimental com o intuito de minimizar as manifestações clínicas da doença e auxiliar no controle glicêmico, bem como na determinação da melhor dose de insulina.

A quantidade de alimento foi calculada com base na necessidade energética de manutenção (NEM) de cada paciente, estimada pela equação  $NEM = 95 \times PC^{0,75}$  (NRC, 2006). Todos os tutores foram instruídos a alimentarem o animal duas vezes ao dia, com intervalo de 12 horas e, após cada refeição realizar a aplicação da insulina. A cada 14 dias os cães retornavam ao HOVET para reavaliação do peso corporal, exame físico e determinação da glicemia antes da primeira refeição (glicemia de jejum) e administração de insulina. Esta reavaliação tinha como objetivo averiguar a necessidade de ajustes na quantidade de alimento ou na dose de insulina.

Os ajustes na dose de insulina foram realizados quando existia presença de sinais clínicos evidentes de hipoglicemia (apatia, sonolência, convulsões) ou hiperglicemia (poliúria e polidipsia) relatados pelos tutores e/ou associados a valores da glicemia abaixo

---

<sup>2</sup> Biorigin, Lençóis Paulista, Brasil.

de 60mg/dL ou acima de 200mg/dL (BEHREND et al., 2018). A quantidade de alimento era diminuída ou aumentada em 10%, caso o animal apresentasse respectivamente, ganho ou perda de peso maior que 5% do seu peso inicial.

O paciente foi considerado estável quando apresentou pelo menos três retornos consecutivos sem manifestações de poliúria, polidipsia e perda de peso significativa e, além disso, apresentou controle glicêmico satisfatório, entre 100 – 200mg/dL na maior parte do dia e entre 80 -150mg/dL durante o nadir (BEHREND et al., 2018). O glicosímetro *Freestyle Optium Neo*<sup>3</sup>, validado para cães (Santos, 2019) foi utilizado para estas mensurações.

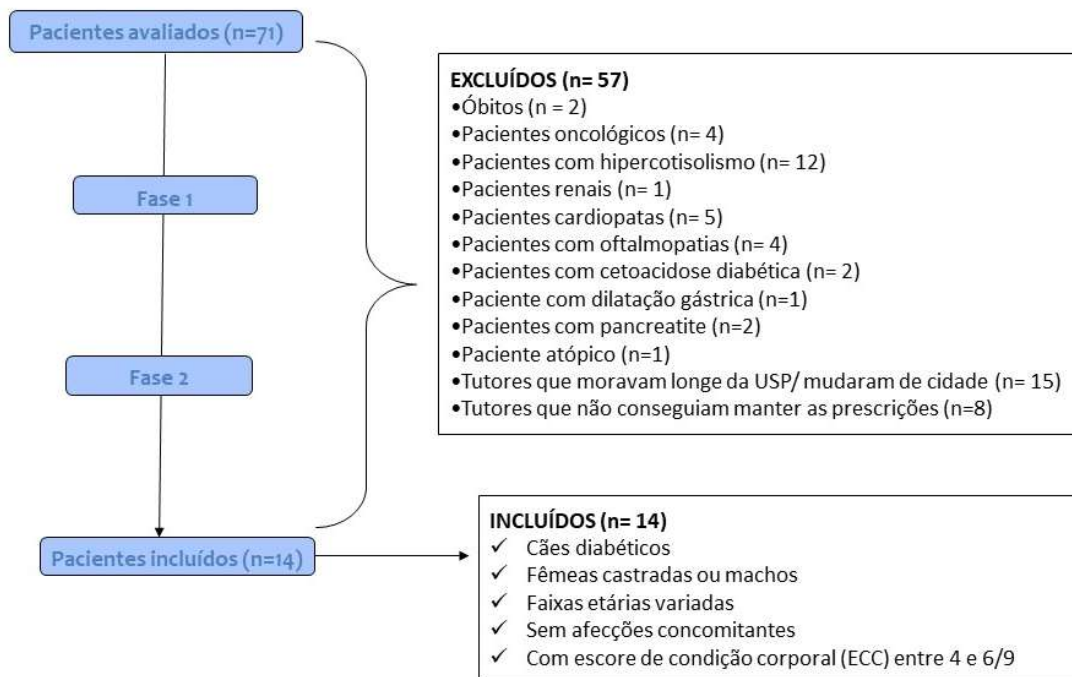
### **3.3.4 PROTOCOLO EXPERIMENTAL**

Foi realizado um prévio levantamento e avaliação dos pacientes com DMC atendidos entre os anos de 2019 até 2021 no HOVET USP. Desta pesquisa inicial, 71 pacientes foram avaliados e, 57 foram excluídos por motivos diversos, listados abaixo. Ao final, 14 foram incluídos no projeto e finalizaram o estudo, conforme pode ser observado na Figura 1.

---

<sup>3</sup> Abbott, Alameda, Estados Unidos.

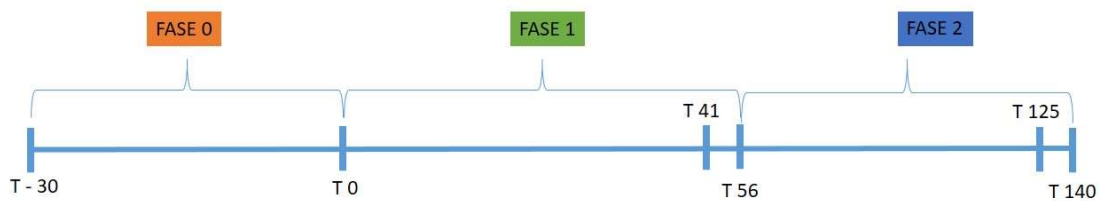




**Figura 1.** Fluxograma de seleção dos pacientes

Fonte: Olivindo (2022)

Na sequência, a Figura 2 ilustra as fases e etapas executadas nos períodos experimentais.



**Figura 2.** Linha do tempo dos períodos experimentais

Fonte: Olivindo (2022)

T0: início do estudo; T 41 –41 dias após o início do estudo e fixação do primeiro sensor, T56 – 56 dias após o início do estudo e primeira coleta; T 125 – 125 dias após o início do estudo e fixação do segundo sensor; T140 – 140 dias após o início do estudo e segunda coleta

Como observado na Figura 2, os animais passaram por duas avaliações experimentais subsequentes ao período de estabilização (Fase 0) em que foram realizadas as avaliações em medidas repetidas no tempo no dia 56 (T56) e 140 (T140). O grupo em

tratamento recebeu suplementação de 0,1% de MacroGard® (equivalente a 15mg/kg) enquanto o grupo controle recebeu o placebo (alimento Premier Nutrição clínica para cães diabéticos triturado).

A randomização do estudo foi feita mediante a prescrição dos manipulados com BG e com alimento triturado, onde foram realizados de forma aleatória dividindo os pacientes nos dois grupos. Os pesquisadores e os tutores não sabiam sob qual tratamento cada paciente estaria sendo submetido durante o estudo. Nos períodos experimentais os animais receberam a suplementação de acordo com sorteio feito por uma terceira pessoa alheia ao estudo.

Caso fosse detectado algum procedimento que não estivesse em conformidade com as orientações previamente estabelecidas, o tutor era advertido e em caso de persistência, o paciente era excluído do projeto. No entanto, cabe ressaltar que na experiência da rotina do Serviço de Nutrologia Veterinária do HOVET/FMVZ-USP, os tutores de cães diabéticos, de modo geral, aderem de maneira assídua ao manejo nutricional recomendado devido a severidade das complicações do DMC.

Ao final de cada fase do projeto, todos os cães retornavam ao HOVET para realização dos procedimentos: exame físico, pesagem, determinação do ECC (LAFLAMME, 1997) e escore de massa muscular (BALDWIN et al., 2010), coleta de sangue para realização de análises laboratoriais: hemograma (eritograma e leucograma) com contagem de plaquetas, dosagem da concentração sérica de creatinina, ureia, proteínas totais, albumina, colesterol, triglicérides e frutossamina, atividade das enzimas ALT e FA, coleta de material para a quantificação de lipoproteínas e ácidos graxos não esterificados (AGNE) e implantação do sistema de mensuração contínua da glicemia (SMCG) para ser avaliada em seus lares, em rotina habitual.

Nos momentos de coleta de material biológico, após 12h de jejum alimentar eram coletados 10mL de sangue por meio de punção da veia jugular externa, este era distribuído em tubos do tipo *vacutainer* com EDTA, gel ativador de coagulação e tubo com EDTA e fluoreto de sódio. O sangue total não coagulado era enviado para realização de hemograma e também para avaliação de hemoglobina glicada, o *vacutainer* com EDTA e fluoreto de sódio era centrifugado a 3500rpm, por 5 minutos, para separação do plasma em alíquotas de 500µL para aferição da glicemia, enquanto que outra parte dessa amostra era separada em criotubos, que foram congelados a -80°C, para posterior análise de beta-hidroxibutirato. O *vacutainer* com sangue coagulado era centrifugado também a 3500rpm por 5 minutos para separação do soro, que era fracionado em alíquotas de 500µL para mensuração das concentrações séricas de albumina, proteínas totais, creatinina, ureia e atividade sérica das enzimas ALT e FA, além de metabolômica e óxido nítrico como forma de avaliar estes parâmetros e a saúde dos animais.

No T56 e T140 as coletas foram realizadas da mesma forma que no T0, porém, 15 dias antes destes momentos, os sensores de mensuração de glicemia intersticial eram instalados e no T56 e T140 eles eram retirados do paciente. Tanto em T0, quanto em T56 e T140 foram realizadas curvas de 10 horas para avaliação de triglicérides, colesterol e glicemia dos animais, onde os mesmos ficavam no hospital juntos dos seus tutores para realização das coletas.

As curvas de 10 horas de glicemia, trigliceridemia e colesterolemia eram obtidas através da coleta de sangue antes da alimentação, sendo, portanto, o T0 a coleta em jejum e a cada 2 horas pós-prandial (T2, T4, T6, T8, T10). Para estas determinações, as amostras foram acondicionadas em tubo *vacutainer* com EDTA e fluoreto de sódio, imediatamente homogeneizadas e centrifugadas a 3500rpm por 5 minutos. O plasma resultante foi separado em microtubos identificados e congelados a -20° C para posterior análise.

### 3.3.5 ANÁLISES LABORATORIAIS

As análises laboratoriais ocorreram conforme rotina do Laboratório Clínico do Departamento de Clínica Médica/HOVET-FMVZ/USP – São Paulo. Os hemogramas foram realizados em contador eletrônico, para uso veterinário, da marca ADVIA 2120b<sup>4</sup>. O hematócrito foi determinado por meio de tubos microcapilares, enquanto a contagem diferencial dos leucócitos foi realizada por microscopia óptica do esfregaço sanguíneo.

A concentração sérica de creatinina foi analisada por meio do emprego de kit comercial da marca Labtest<sup>5</sup> pelo método picrato alcalino, já a atividade sérica da alanina aminotransferase (ALT) e da fosfatase alcalina (FA) foram analisadas pelo método IFCC/SEQC sendo empregado o kit comercial da marca Biosystems<sup>6</sup>.

As análises de triglicerídeos e colesterol plasmáticos foram realizadas através do kit comercial da marca Biosystems<sup>3</sup> por meio do método glicerol fosfato oxidase/peroxidase. A ureia sérica foi analisada pelo método enzimático FS urease GLDH empregando-se o kit comercial da marca Diasys<sup>7</sup>. A albumina foi mensurada pelo método verde de bromocresol utilizando-se o kit comercial da marca Labtest, enquanto que as proteínas totais foram analisadas pelo método do biureto da marca Labtest. Já as concentrações de glicose plasmática para a curva glicêmica convencional de 10hs foram mensuradas pelo método peroxidase/oxidase, utilizando-se o kit comercial da marca Labtest.

As curvas glicêmicas foram realizadas sempre quando o paciente veio ao hospital para coletas (T0, T56 e T140) e foram obtidas por meio do SMCG, acoplado nos animais e avaliadas em seu ambiente habitual. Para posicionamento do SMCG nos cães,

---

<sup>4</sup> Siemens, Erlangen, Alemanha.

<sup>5</sup> Labtest, Lagoa Santa, Brasil.

<sup>6</sup> Biosystem S.A., Barcelona, Espanha.

<sup>7</sup> Diasys – Diagnostic System, Holzheim, Alemanha.

primeiramente foi realizada a tricotomia em área lateral cervical, seguida pela higienização da região com álcool 70%, posterior introdução do sensor do aparelho sob a pele e proteção do mesmo com bandagens, de acordo com o descrito por Corradini et al. (2016) e por Wiedmeyer et al. (2005). O SMCG utilizado foi o *FreeStyle Libre*, validado e empregado em cães diabéticos (CORRADINI et al., 2016).

A partir das curvas glicêmicas foram obtidas as variáveis glicêmicas: glicemia em jejum, média, máxima e mínima; diferença entre máxima e mínima; áreas abaixo da curva glicêmica (AACG) e tempo em hipoglicemia e hiperglicemia. As áreas abaixo da curva foram calculadas por meio de integrações numéricas pelo método trapezoidal para as concentrações glicêmicas no intervalo total mensurado e foram criadas a partir do programa Graphpad prism 6<sup>8</sup>.

As proteínas glicadas que foram avaliadas no estudo foram a hemoglobina glicada e a frutossamina, onde a hemoglobina glicada foi analisada pelo método de separação rápida por resina de troca iônica, com a finalidade de determinar a fração glicada da hemoglobina (HbA1) presente no sangue total, utilizando-se o kit *Glycohemoglobin HbA1 Test*, utilizado para avaliação de hemoglobina humana. A frutossamina foi mensurada nas amostras de soro por meio do kit fructosamina NBT da Biosystems S.A.®.

Foram feitas coletas de amostras para determinação da hemoglobina glicada e frutossamina no final de cada fase, quantificadas em sangue total e soro, respectivamente. No momento das coletas de sangue para determinação da glicemia em jejum, não foram coletadas amostras na Fase 0 para avaliação da hemoglobina glicada dos pacientes 1, 2, 3, 4 e 5, e na Fase1 dos pacientes 1 e 2, devido à dificuldade inicial de envio imediato da amostra do sangue total para avaliação laboratorial, procedimento que foi estabelecido com sucesso para os demais pacientes.

---

<sup>8</sup> GraphPad Software, San Diego, CA, Estados Unidos.

### 3.3.5.1 SISTEMA DE MENSURAÇÃO CONTÍNUA DE GLICOSE

Conforme explicado anteriormente, além da curva glicêmica ambulatorial convencional, também foi realizada a curva glicêmica com o uso do sistema de mensuração contínua de glicose intersticial. As curvas glicêmicas contínuas foram obtidas por meio do SMCG Freestyle Libre (marca Abbott®), também denominado como sistema flash de monitoramento de glicemia (CORRADINI et al., 2016).

O posicionamento do sensor nos animais foi realizado por via subcutânea, em região cervical lateral previamente tricotomizada, conforme descrito por Corradini et al. (2016). Após tricotomia realizou-se antissepsia da região com lenço umedecido em álcool que acompanha o sensor e então a fixação do sensor por meio de aplicador que acompanha o kit, seguindo as instruções do fabricante. Após o sensor estar devidamente posicionado, realizou-se a ativação do leitor do sistema, para que após 60 minutos (tempo necessário para a adequada lubrificação do sensor pelo líquido intersticial) fosse iniciada a mensuração da concentração de glicose intersticial.

Após o início da mensuração de glicose intersticial, o sensor foi fixado com fita adesiva do tipo micropore (10 x 10cm), faixa do tipo atadura, malha auto-adesiva e fita adesiva do tipo esparadrapo para proteção do sensor e para evitar que o paciente retirasse o mesmo. Com o sensor bem afixado, os animais eram liberados e retornavam em 14 dias (T56 e T140) para retirada do mesmo. Os tutores receberam uma ficha para anotar todos os horários exatos sobre a rotina dos cães, como momento de alimentação, aplicação da insulina, atividade física e valores glicêmicos obtidos nos momentos mensurados.

Por meio dos resultados obtidos nestas curvas glicêmicas, foram analisadas as variáveis glicemia média total, glicemia máxima e glicemia mínima, área abaixo da curva glicêmica (AACG) e o tempo em hipoglicemia e hiperglicemia. A glicemia média total foi

definida como a média da concentração de glicose intersticial mensurada a cada 15 minutos pelo SMCG em todo o período avaliado, já a glicemia máxima e mínima foi encontrada após a definição do valor máximo e mínimo, respectivamente, após a definição dos valores no período.

O cálculo da frequência de tempo em hipoglicemia (menor que 60mg/dL) ou hiperglicemia (maior que 200mg/dL) de cada animal foi efetuado por meio da contagem do número de mensurações em hipoglicemia e hiperglicemia, ao longo de todo período, dividida pelo total de mensurações de cada animal, para cada grupo. Importante ressaltar que o conceito de hipoglicemia e hiperglicemia não é relativo aos valores de referência para animais saudáveis, mas ao preconizado no estudo como o intervalo de adequado controle para cães diabéticos [60 a 200mg/dL (BEHREND et al., 2018)].

### 3.3.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Primeiramente foram verificadas a normalidade dos resíduos pelo teste de SHAPIRO-WILK e a homogeneidade das variâncias comparadas pelo teste de Levine. Quando necessário foi realizada transformação dos dados pela base logarítmica. Após verificação das premissas estatísticas, foi realizada análise de variância com medidas repetidas no tempo pelo PROC MIXED no programa *Statistical Analysis System* (SAS, versão 9.4). Valores de  $p < 0,05$  foram considerados significativos.

Os dados foram avaliados segundo o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = \mu_i + R_j + T_k + T_jR_k + e_{ijk}$$

Em que:  $Y_{ijk}$  = variável dependente;  $\mu_i$  média geral;  $R_k$  = efeito fixo de tratamento;  $T_n$  = efeito fixo de tempo;  $T_nR_k$  = efeito fixo da interação entre tempo e tratamento;  $e_{ijk}$  = erro residual.

### **3.3.7. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Quatorze animais finalizaram o estudo e suas características individuais estão apresentadas na Tabela 2, bem como as especificações do manejo insulínico (dose de insulina e horários de administração). Após a finalização do estudo, todos os cães foram reavaliados em 30 dias e liberados, todavia, com recomendação de retorno para monitorização do diabetes em três meses.

Os resultados das avaliações dos parâmetros hematológicos: atividade das enzimas hepáticas (ALT e fosfatase alcalina), proteína total, albumina, creatinina, ureia, triglicérides e colesterol no final de cada fase do estudo: fase 0, fase 1 e fase 2 estão apresentados nas Tabelas 3, 4 e 5, respectivamente. Também estão apresentadas as informações relacionadas ao peso corporal, ECC e parâmetros lipídicos e glicêmicos avaliados, bem como a avaliação glicêmica realizada por diferentes metodologias para mensuração do sangue capilar da extremidade distal da cauda como alternativa para monitoramento glicêmico em cães diabéticos.



**Tabela 2.** Descrição dos pacientes inclusos no estudo.

Animal	Sexo	Raça	Idade (anos)	Peso (Kg)	ECC	Unidades manhã	Unidades noite	Dose suplemento (mg)	Horário Insulina 1	Horário Insulina 2	Tratamento
1	FC	SRD	10	24,9	6	10 UI	10 UI	373	10:00	22:00	BG
2	MC	SRD	10	8,2	6	3 UI	4 UI	0	11:00	23:00	PB
3	MC	Lhasa Apso	8	8,7	5	5UI	5UI	129	08:30	20:30	BG
4	FC	Poodle	8	7,4	6	3 UI	3 UI	120	09:00	21:00	BG
5	MC	Yorkshire	6	10,8	5	8 UI	8 UI	0	07:00	19:00	PB
6	FC	SRD	8	17,4	5	14UI	13UI	0	07:15	19:15	PB
7	FC	SRD	10	16,9	4	8UI	8UI	0	11:30	23:30	PB
8	MC	SRD	9	8,3	5	4UI	4UI	130	07:00	19:00	BG
9	FC	SRD	9	8,8	4	4UI	4UI	136	07:00	19:00	BG
10	FC	Lhasa Apso	13	5,0	4	3UI	3UI	0	09:00	21:00	PB
11	MI	SRD	9	21,8	5	5UI	5UI	0	08:00	20:00	PB
12	MI	Pug	3	10,9	5	10UI	10UI	160	07:30	19:30	BG
13	FC	Lhasa Apso	7	6,5	4	2UI	2UI	117	09:00	21:00	BG
14	FC	Pastor Ale.	7	33,6	4	14UI	14UI	373	08:00	20:00	BG

MC=Macho castrado; MI=Macho inteiro; FC=Fêmea castrada; UI=Unidades internacionais; mg=miligramas; SRD=sem raça definida; MI=macho inteiro; FC=fêmea castrada; MC=macho castrado; PC=peso corporal; ECC=escore de condição corporal na escala de 1 a 9 (LAFLAMME, 1997). BG=beta-glucanos; PB=placebo.

Os pacientes diabéticos, não compensados ou recém-diagnosticados, apresentam como um dos sinais clássicos da doença, a perda de peso progressiva. Segundo Behrend et al. (2018), é necessário fazer reavaliações do ECC uma ou duas vezes por mês acompanhadas de ajustes na ingestão dietética para manter o peso ideal para o monitoramento adequado do paciente. A evolução dos pesos corporais dos animais do estudo está apresentada na Tabela 3.

**Tabela 3.** Peso corporal (em kg) dos pacientes avaliados ao longo do estudo, nas fases 0, 1 e 2.

<b>ANIMAL</b>	<b>FASE 0</b>	<b>FASE 1</b>	<b>FASE 2</b>
1	24,9	25,1	17,3
2	8,2	8,7	7,6
3	8,3	8,7	9,2
4	7,4	7,1	7,0
5	10,8	10,3	10,5
6	17,4	16,7	16,4
7	16,9	17,5	18,0
8	8,3	7,7	7,1
9	8,8	9,2	9,6
10	5,0	4,9	4,6
11	21,8	21,6	20,6
12	10,9	10,4	10,6
13	6,5	6,9	6,6
14	33,6	37,5	40,2

Não foram observadas diferenças no peso médio ( $p=0,6504$ ) dos cães diabéticos ( $n=14$ ) ao se realizar a comparação entre os tratamentos (grupo beta-glucanos: peso corporal médio =  $14,73 \pm 3,68$  kg; placebo:  $11,81 \pm 3,68$  kg).

Com relação ao ECC, apesar de ser uma avaliação subjetiva, esta aferição foi realizada sempre pelo mesmo médico veterinário ao longo do estudo para reduzir os efeitos de subjetividade. A avaliação deste parâmetro durante este tempo de estudo em cães diabéticos não tem precedentes na literatura veterinária, aspecto que dificultou a discussão dos resultados aqui encontrados.

**Tabela 4.** Escore de condição corporal dos pacientes avaliados ao longo do estudo, nas fases 0, 1 e 2.

<b>ANIMAL</b>	<b>FASE 0</b>	<b>FASE 1</b>	<b>FASE 2</b>
1	6	5	4
2	6	6	5
3	5	5	5
4	6	6	6
5	5	5	5
6	6	6	6
7	4	5	5
8	5	4	3
9	4	4	4
10	4	4	3
11	4	4	4
12	5	5	5
13	4	4	4
14	4	5	5

Desta forma, foram realizados o acompanhamento e a comparação do ECC médio (Tabela 5) dos animais no dia das coletas de sangue, no final de cada fase (0, 1 e 2). Não foram observadas diferenças ( $p=0,884$ ) entre os tratamentos (ECC médio  $\pm$  desvio padrão do grupo beta-glucanos:  $4,79 \pm 0,366$ ; placebo:  $4,72 \pm 0,366$ ).

**Tabela 5.** Peso corporal (em kg) e escore de condição corporal médios dos pacientes avaliados ao longo do estudo, nas fases 0, 1 e 2.

<b>Variável</b>	<b>Tempo</b>	<b>Tratamento</b>		<b>EPM</b>	<b>Valor de p</b>		
		<b>PB</b>	<b>BG</b>		<b>Trat</b>	<b>Tempo</b>	<b>Trat*tempo</b>
Peso corporal (kg)	Média	11,81	14,73				
	T0	12,00	14,6	3,68	0,6504	0,3893	0,9418
	T1	11,90	15,11				
	T2	11,55	14,50				
ECC	média	4,72	4,79				
	T0	4,83	4,87	0,366	0,884	0,1010	0,9482
	T1	4,83	4,87				
	T2	4,50	4,62				

ECC= escore de condição corporal; Kg= quilogramas; EPM= erro padrão da média; Trat= tratamento; T0= coleta 0; T1= coleta 1; T2= coleta 2; PB= grupo placebo; BG= grupo Beta-glucanos. Valores de  $p<0,05$  foram considerados significativos.

No estudo realizado por Araújo et al. (2017) os ratos não obesos aumentaram o peso, porém estavam comendo uma dieta hiperlipídica no experimento e os animais obesos não

apresentaram alteração significativa no período de 28 dias. Já no estudo de Ferreira et al. (2022) com cães obesos, não foi relatado o acompanhamento do peso no artigo, durante os 90 dias no qual se realizou o estudo, todavia, os autores observaram aumento das concentrações circulantes de GLP-1, possível marcador de saciedade. Ainda, segundo revisão sistemática publicada por Canaan et al. (2021), ao avaliarem a possível influência do consumo de beta-glucanos extraídos de leveduras no peso corporal de roedores obesos e não obesos, chegou-se à conclusão que não houve efeito.

### **3.3.7.1 AVALIAÇÕES LABORATORIAIS**

#### **3.3.7.1.1 PARÂMETROS LIPÍDICOS**

Todos os pacientes foram acompanhados ao longo das três fases, nas quais, ao final de cada uma delas, foram realizadas as coletas de sangue para avaliações hematológicas, conforme apresentado na Tabela 6.

**Tabela 6.** Perfil bioquímico (perfil renal, hepático, triglicérides e colesterol) dos animais após o período de estabilização (Fase 0).

<b>ANIMAL</b>	<b>Proteína total (g/dL)</b>	<b>Albumina (g/dL)</b>	<b>ALT (U/L)</b>	<b>FA (U/L)</b>	<b>Ureia (mg/dL)</b>	<b>Creatinina (mg/dL)</b>	<b>Triglicérides (mg/dL) *</b>	<b>Colesterol (mg/dL)°</b>
1	7,5	3,9	49,2	88,6	36,3	0,9	82,1	383,9
2	8,5	4,6	43,4	26,4	48,5	0,8	659,5	327,6
3	6,6	3,8	52,8	110,1	50,2	0,9	97,6	294,1
4	7,4	4,4	26,0	190,3	31,2	0,8	97,4	370,6
5	6,9	4,0	31,6	49,3	34,1	0,9	201,9	323,3
6	6,6	3,9	33,3	75,1	34,7	0,8	242,1	317,7
7	6,7	3,8	56,4	139,3	42,1	1,0	110,3	271,7
8	6,5	3,4	18,5	88,0	31,8	0,8	146,4	169,5
9	5,8	3,4	46,8	56,3	65,4	1,0	269,3	200,4
10	7,2	3,6	66,3	63,3	51,0	0,7	114,7	245,0
11	5,7	3,1	27,0	70,0	27,5	0,9	313,7	341,7
12	7,1	3,6	19,6	93,1	33,3	0,9	65,9	305,9
13	6,2	3,5	31,3	75,4	40,3	0,7	86,1	225,1
14	5,3	2,6	50,1	6,7	29,0	0,8	71,9	400,6

FA= Fosfatase alcalina; ALT= Alanina aminotransferase; \*Intervalo de referência para cães saudáveis de acordo com o Laboratório Clínico do Departamento de Clínica Médica/HOVET- FMVZ/USP = 40 a 169mg/dL. Os demais intervalos de referência foram apresentados no ANEXO I.

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 6, os pacientes incluídos no estudo apresentaram, no fim da fase de estabilização, dislipidemia secundária. Destes, 5/14 tinham hipertrigliceridemia e 8/14 hipercolesterolemia. Estes dados corroboram os publicados por Xenoulis & Steiner (2015) que relataram que mais da metade dos pacientes diabéticos apresentaram quadros de dislipidemia secundária e, que mesmo após o período de estabilização ainda foi observada. No presente estudo, somente três pacientes apresentaram concentrações de triglicérides e colesterol dentro dos intervalos de referência para a espécie. Cabe ressaltar que nenhum dos cães recebia tratamento para dislipidemia e, todos eles estavam com dose estável de insulina e recebiam alimento em quantidade equivalente à sua necessidade energética de manutenção.

Nas tabelas 7 e 8 estão apresentados os resultados das mesmas variáveis nas fases subsequentes. No final da primeira fase (Fase 1) foi possível observar redução nas concentrações de triglicérides. Todos (8/8) os animais pertencentes ao grupo suplementado apresentaram resultados dentro do intervalo de referência e, em relação às concentrações de colesterol, apresentaram valores dentro do intervalo ou redução, exceto o paciente 12 (Tabela 7).

Já na segunda fase (Tabela 8) observou-se melhora nos valores de triglicérides, os 8/8 dos participantes do grupo BG apresentaram concentrações dentro do intervalo de referência para esta variável e, normalização ou somente redução dos valores de colesterol, exceto os pacientes 1 e 14 que faziam uso de bezafibrato (2,5mg/kg a cada 12 horas) ao serem recrutados, o qual foi suspenso para inclusão dos mesmos no estudo.

**Tabela 7.** Perfil bioquímico (perfil renal, hepático, triglicérides e colesterol) dos animais após a retirada do primeiro sensor do SMCG (Fase 1).

<b>ANIMAL</b>	<b>Proteína total (g/dL)</b>	<b>Albumina (g/dL)</b>	<b>ALT (U/L)</b>	<b>FA (U/L)</b>	<b>Ureia (mg/dL)</b>	<b>Creatinina (mg/dL)</b>	<b>Triglicérides (mg/dL)*</b>	<b>Colesterol (mg/dL) °</b>	<b>Grupo experimental</b>
1	6,6	3,6	30,0	45,8	33,9	0,8	74,6	307,2	BG
2	6,9	4,2	12,0	18,3	53,0	1,0	282,5	281,4	PB
3	6,6	4,1	37,2	42,2	48,7	0,9	58,1	265,6	BG
4	7,2	4,5	26,9	191,2	27,2	0,7	83,2	308,6	BG
5	7,2	4,7	20,8	35,5	31,8	0,9	193,2	326,3	PB
6	6,9	4,2	31,6	72,8	29,2	0,8	218,3	392,4	PB
7	6,9	4,1	86,2	139,8	39,0	0,8	88,6	303,9	PB
8	6,6	3,5	20,3	90,1	35,9	0,8	92,8	162,6	BG
9	5,7	3,4	26,4	77,3	21,5	0,8	68,8	254,4	BG
10	9,0	3,9	30,2	33,4	61,2	0,8	620,4	213,9	PB
11	5,7	3,3	39,8	17,8	40,1	0,8	57,7	263,3	PB
12	6,8	3,6	21,3	81,6	40,8	0,9	154,1	327,7	BG
13	6,0	3,6	26,3	21,1	33,4	0,8	69,1	256,0	BG
14	5,5	2,7	28,8	10,2	33,4	0,8	102,5	334,2	BG

SMCG= sistema de monitoramento contínuo da glicemia; FA= Fosfatase alcalina; ALT= Alanina aminotransferase; \*Intervalo de referência para cães saudáveis de acordo com o Laboratório Clínico do Departamento de Clínica Médica/HOVET- FMVZ/USP = 40 a 169mg/dL. °125 a 270mg/dL. Os demais intervalos de referência foram apresentados no ANEXO I. PB= grupo placebo; BG= grupo beta-glucanos.

**Tabela 8.** Perfil bioquímico (perfil renal, perfil hepático, triglicérides e colesterol) dos animais após a retirada do segundo sensor do SMCG (Fase 2).

<b>ANIMAL</b>	<b>Proteína total (g/dL)</b>	<b>Albumina (g/dL)</b>	<b>ALT (U/L)</b>	<b>FA (U/L)</b>	<b>Ureia (mg/dL)</b>	<b>Creatinina (mg/dL)</b>	<b>Triglicérides (mg/dL)*</b>	<b>Colesterol (mg/dL)°</b>
1	6,8	3,9	33,9	57,1	38,5	0,82	62,4	344,8
2	6,8	4,3	18,6	12,2	51,7	0,89	209,7	261,2
3	6,5	3,8	32,1	64,0	45,2	0,87	78,3	236,7
4	7,0	4,2	30,4	194,7	22,4	0,69	101,3	296,4
5	7,6	4,1	16,9	47,0	38,7	0,90	509,1	329,4
6	6,6	3,6	46,5	61,0	28,8	0,83	154,3	285,8
7	7,3	2,9	122,5	200,5	49,3	0,96	251,3	301,0
8	4,7	2,7	14,2	44,6	23,7	0,75	48,7	128,4
9	5,9	3,5	43,6	55,8	40,8	0,96	93,1	261,5
10	6,7	3,2	49,3	42,3	48,3	0,82	112,5	282,5
11	5,6	3,3	36,3	19,9	33,9	0,90	57,7	263,0
12	6,7	3,4	18,3	154,5	27,4	0,96	66,4	286,7
13	5,9	3,3	23,9	43,7	39,1	0,92	81,5	242,5
14	5,7	2,5	49,5	6,4	41,2	0,78	87,1	451,8

SMCG= sistema de monitoramento contínuo da glicemia; FA= Fosfatase alcalina; ALT= Alanina aminotransferase; \*Intervalo de referência para cães saudáveis de acordo com o Laboratório Clínico do Departamento de Clínica Médica/HOVET- FMVZ/USP: \*40 a 169mg/dL; °125 a 270mg/dL. Os demais intervalos de referência foram apresentados no ANEXO I .



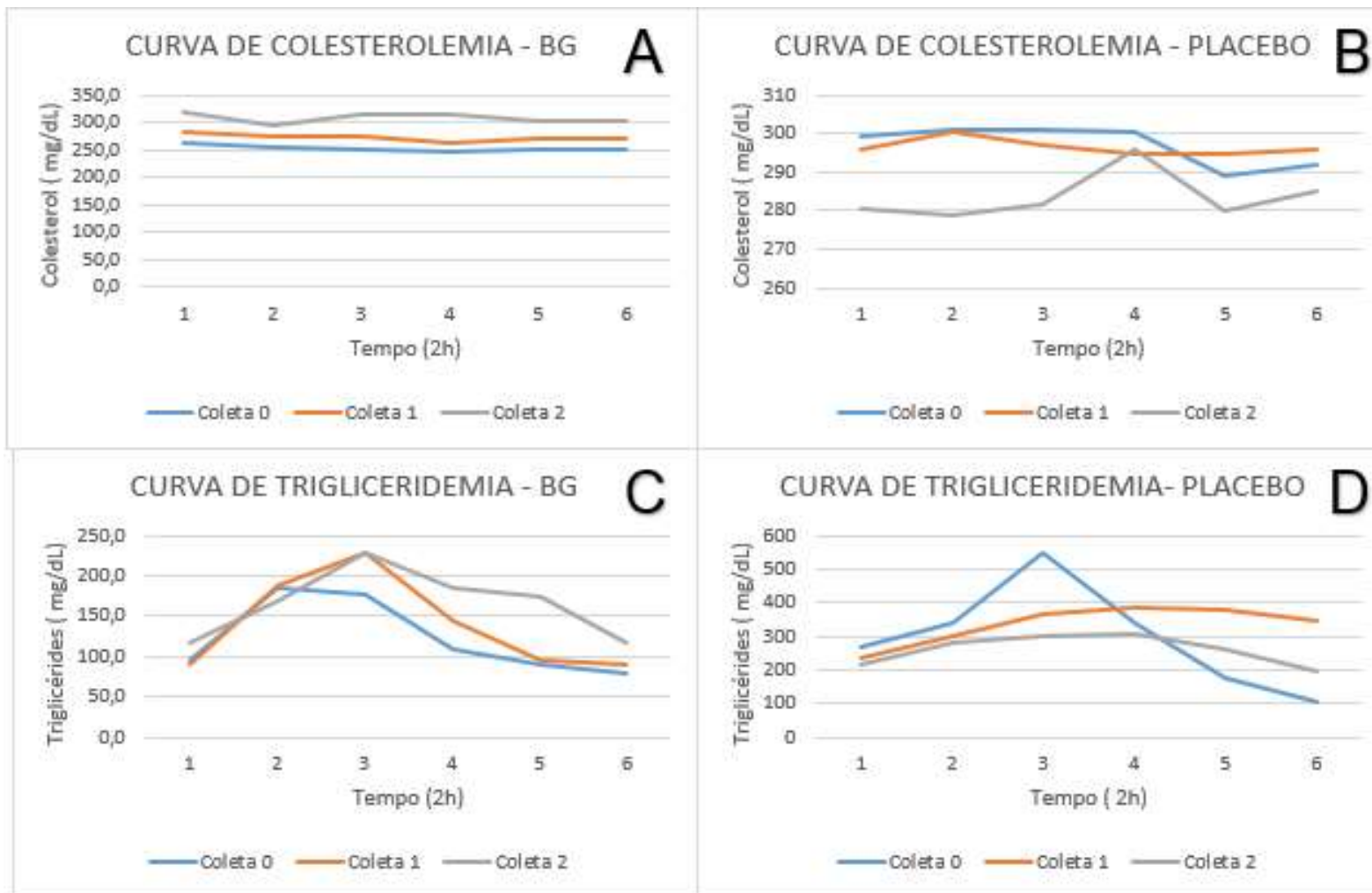
Com relação às concentrações séricas de triglicérides, foram observadas diferenças entre os tratamentos, tanto em jejum ( $p=0,0058$ ), concentrações médias ( $p=0,0204$ ) e máximas ( $p=0,0248$ ), onde os triglicérides do grupo BG estavam mais baixos que o grupo placebo. Já com relação aos valores de colesterol não houve diferença ( $p=0,5885$ ; Tabela 9).

**Tabela 9.** Concentrações séricas de triglicérides e colesterol dos grupos experimentais (valores em jejum, mínimos, médios e máximos).

Variável (mg/dL)	Tempo	Tratamento		EPM	Valor de p		
		PB	BG		Trat	Tempo	Trat*tempo
Triglicérides (Jejum)	média	239,63	101,14	31,27	0,0058	0,9342	0,756
	T0	267,2	94,71				
	T1	237,91	90,37				
	T2	213,76	118,32				
Triglicérides (médios)	média	272,37	131,9	39,760	0,0204	0,6513	0,1472
	T0	272,23	110,25				
	T1	310,60	124,30				
	T2	234,25	161,15				
Triglicérides (mínimos)	média	117,33	68,55	17,52	0,0562	0,7528	0,2710
	T0	106,88	65,07				
	T1	143,21	57,06				
	T2	101,88	83,53				
Triglicérides (máximos)	média	544,01	243,9	88,450	0,0248	0,5199	0,1540
	T0	604,00	223,82				
	T1	561,80	244,66				
	T2	466,21	263,22				
Colesterol (Jejum)	média	289,76	293,83	24,823	0,9034	0,4430	0,5625
	T0	292,61	312,23				
	T1	296,10	283,22				
	T2	280,56	286,03				
Colesterol (médio)	média	291,82	279,21	15,06	0,5885	0,7669	0,3985
	T0	297,08	252,36				
	T1	297,28	273,61				
	T2	281,09	311,65				
Colesterol (mínimo)	média	279,18	263,50	17,507	0,5043	0,8646	0,6220
	T0	284,85	242,32				
	T1	280,58	261,08				
	T2	272,11	287,08				
Colesterol (máximo)	média	307,23	293,25	18,83	0,5797	0,7584	0,5272
	T0	311,36	267,42				
	T1	309,80	287,25				
	T2	300,51	325,07				

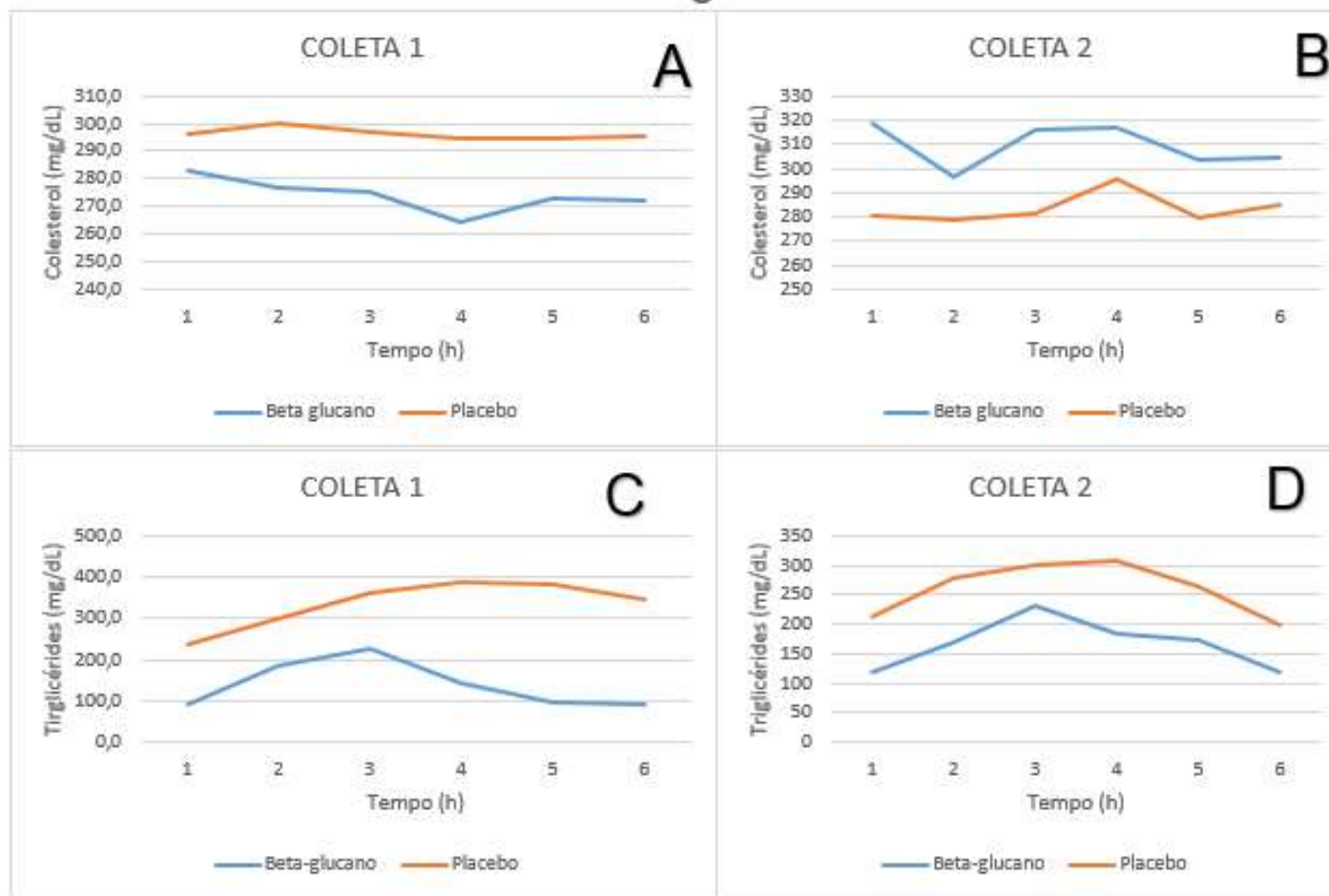
\*Intervalo de referência para cães saudáveis de acordo com o Laboratório Clínico do Departamento de Clínica Médica/HOVET- FMVZ/USP; Triglicérides: 40 a 169mg/dL; Colesterol: 125 a 270mg/dL; PB= grupo placebo; BG= grupo beta-glucanos; EPM= erro padrão da média; Trat.= tratamento; T0= coleta 0; T1= coleta 1; T2= Coleta 2; Valores de  $p < 0,05$  significativos.

Após o tratamento estabelecido para cada paciente, durante cada fase, perfazendo período total de 140 dias com os pacientes sob a mesma dose de insulina, os resultados do metabolismo lipídico dos cães diabéticos foram plotados para construção das curvas da concentração sérica de triglicérides e colesterol, em seis tempos, considerando os valores de jejum e a cada 2 horas (Figura 5).



**Figura 3.** Curvas de colesterolemia (A e B) e trigliceridemia (C e D) fases 0, 1 e 2 do estudo, dentro de cada grupo.

Fonte: Olivindo (2022)



**Figura 4.** Curvas de colesterolemia (A e B) e de trigliceridemia (C e D) fases 1 e 2 do estudo (mesmos tempos).

Fonte: Olivindo (2022)

A partir dos resultados apresentados nas tabelas 7,8 e 9 e ilustrados nas figuras 5 e 6, foi possível observar que os pacientes que receberam suplementação de beta-glucanos apresentaram valores médios de triglicérides (124,3mg/dL) e colesterol (273,1mg/dL) menores na Fase 1, quando comparados aos não suplementados (310,6mg/dL; 297,28mg/dL), respectivamente. Os valores de triglicérides permaneceram menores na Fase 2 (grupo BG= 161,25mg/dL; PB= 310,60mg/dL). Todavia, o mesmo não foi observado em relação a variável colesterol (BG= 311,65mg/dL; PB= 281,09mg/dL).

Até o presente momento, não foram publicados estudos que avaliaram o uso de fibras solúveis como estratégia de controle da lipídemia em cães diagnosticados com dislipídemia primária ou secundária. Existe um estudo que avaliou o uso de beta-glucanos de levedura para cães obesos e apontou redução nas concentrações de triglicérides e colesterol, na mesma dose (15mg/kg) avaliada no presente trabalho, após 71 dias de ingestão do alimento extrusado com o nutracêutico (FERREIRA et al., 2022).

Outro estudo avaliou camundongos obesos como modelo e comparou dois grupos: tratados com beta-glucanos e não tratados e observaram redução de colesterol total (13,33%) e de triglicérides (16,77%) no grupo tratado com beta-glucanos. Todavia, utilizaram a dose de 30mg/kg, duas vezes maior do que a que utilizamos, durante o período de 28 dias (DE ARAÚJO et al., 2017).

Na espécie humana, um trabalho publicado por Nicolosi et al. (1999), avaliou os efeitos da ingestão de BG de levedura adicionado ao suco de laranja de homens obesos com hipercolesterolemia e houve redução significativa no colesterol total e redução de 8,0% nas concentrações séricas das LDLs após 8 semanas de consumo.

Sabe-se que o efeito das fibras solúveis na redução das frações lipídicas pode estar relacionado a alterações na síntese de ácidos graxos de cadeia curta, que por sua vez influenciam na digestão dos lipídeos (PARK et al., 2017). Além disso, os BGs podem levar

a conversão do colesterol em ácidos biliares, o que possivelmente resulta na redução desses lipídios na circulação (CHANG et al., 2013) ou ainda, podem estar envolvidos na formação de ácidos graxos de cadeia curta a partir da degradação das fibras pela microbiota intestinal, que leva a redução na síntese hepática de colesterol (GHAFFARZADEGAN et al., 2018).

Porém, no presente trabalho não observamos estes efeitos ao analisarmos a Fase 2 da curva de colesterol sérico. Estes resultados podem estar relacionados ao fato de que os pacientes eram naturalmente diabéticos e não receberam nenhum tratamento para dislipidemia, a qual ocorre em razão da ausência de insulina e menor captação de glicose pelos tecidos insulino-dependentes. Estas alterações promovem estímulo à lipólise e inibição da lipogênese e assim, resultam no aumento de lipídeos circulantes que originam e mantêm a hiperlipidemia nestes pacientes (OKI, 1995; XENOULIS & STEINER, 2010).

Em relação aos demais parâmetros bioquímicos analisados, podemos observar alterações somente na função da atividade da enzima fosfatase alcalina e da enzima alanina aminotransferase (Tabelas 3, 4 e 5). Observa-se que a paciente 7 apresentou alterações na atividade da enzima hepática ALT na Fase 0, normalizando-se nas demais. Já em relação a atividade da enzima hepática fosfatase alcalina, podemos observar alterações no paciente 4 ao longo das três fases e, na Fase 2, nos pacientes 7 e 12. Esta alteração da fosfatase alcalina em cães diabéticos sugere-se ser devido ao aumento da isoenzima fosfatase alcalina induzida por corticosteroides (JENSEN & POULSEN, 1992).

#### **3.3.7.1.2 PARÂMETROS GLICÊMICOS**

Por se tratar de um parâmetro que pode apresentar importantes variações devido a mudanças ambientais, às coletas, perfil dietético ou mesmo o manejo insulínico

realizado, na tentativa de testar a hipótese deste estudo de que a suplementação com beta-glucanos na dieta de cães diabéticos levaria a redução da glicemia dos mesmos, foram aplicadas duas metodologias de mensuração glicêmica nos 14 cães avaliados após cada fase (Fases 1 e 2) dos tratamentos.

### **3.3.7.1.2.1 VARIÁVEIS GLICÊMICAS CONTÍNUAS**

Um sensor de mensuração contínua de glicose (SMCG) foi colocado no 41º dia e no 125º dia e, também foi realizada a curva glicêmica convencional de 10 horas no dia final de cada fase (no 56º dia e no 140º dia). Além disso, a glicemia também foi avaliada na extremidade distal da cauda como alternativa para monitoramento glicêmico em cães diabéticos, com o intuito de avaliar os valores glicêmicos obtidos por meio de análise comparativa entre o sangue capilar coletado da extremidade distal da cauda com glicosímetro validado e, dessa forma, comparar com valores glicêmicos obtidos através do sangue venoso central por método portátil e sangue venoso central por método laboratorial.

O sensor *freestyle libre*® possibilita a obtenção de curvas glicêmicas por 15 dias (perfazendo um total de 20.160 minutos), porém alguns dos pacientes do estudo removeram o sensor de glicemia antes disso e alguns sensores pararam de funcionar antes do 15º dia. Logo, foi estabelecido o período de 72 horas após o primeiro dia da inserção do sensor, ou seja, os 2º, 3º e 4º dias para igualar o mesmo período de avaliação nos 14 cães diabéticos.

As Figuras 7 e 8 ilustram as curvas glicêmicas médias dos animais nos dois tratamentos e a comparação dos grupos ao final de cada fase. Na Tabela 10 estão apresentados os resultados dos valores mínimos, médios e máximos. É possível observar que quando os animais foram suplementados com beta-glucanos, houve interação do

tratamento e do tempo nas curvas glicêmicas contínuas ( $p=0,0072$ ) nos valores de glicemias médias, onde o tratamento placebo teve média maior em T1 do que em T2. Além disso, pode-se observar que a glicemia máxima do grupo BG tem menor média do que o grupo placebo ( $p=0,0261$ ).

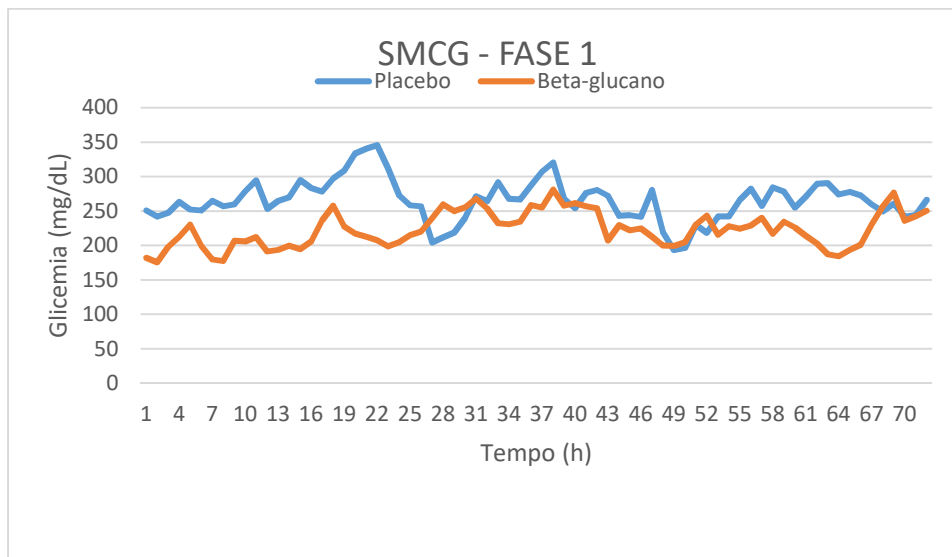
Já em relação as áreas abaixo da curva obtidas nas curvas glicêmicas contínuas, é possível observar que na coleta 1, a área abaixo da curva do grupo suplementado com beta-glucanos (15881) é menor quando comparada ao do grupo placebo (18870), enquanto que na coleta 2, o contrário pode ser observado, a área do grupo beta-glucanos foi maior (17320) quando comparada ao grupo placebo (14102).



**Tabela 10.** Variáveis glicêmicas contínuas médias, mínimas e máximas observadas nos grupos experimentais.

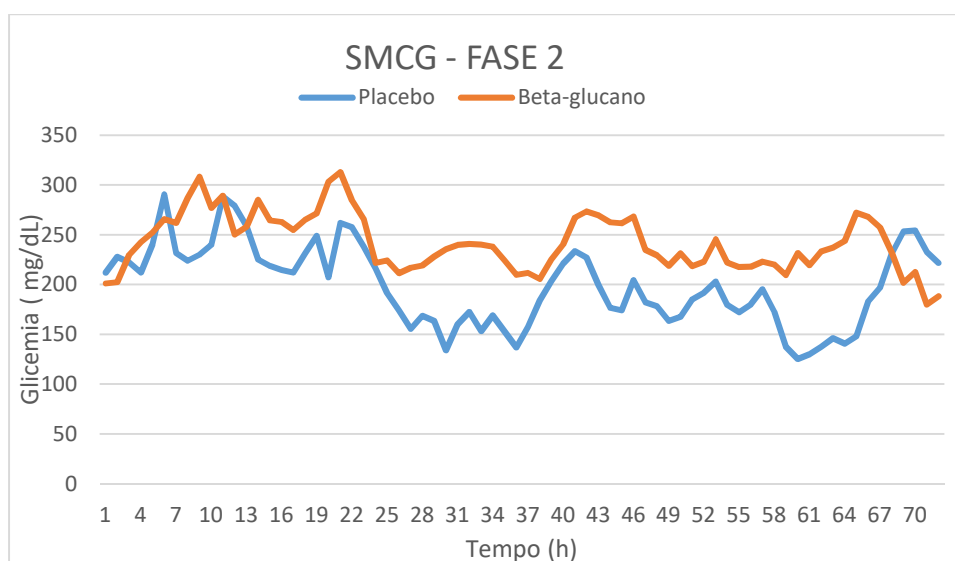
Variável (mg/dL)	Tempo	Tratamento		EPM	Valor de p		
		PB	BG		Trat	Tempo	Trat*tempo
Glicemia (média)	média	232,34	233,03				
	T1	265,54 <sup>A</sup>	223,82	32,08	0,9872	0,0925	0,0072
	T2	199,12 <sup>B</sup>	242,23				
Glicemia (mínima)	média	67,16	88,31				
	T1	75,50	77,62	22,18	0,485	0,8426	0,1271
	T2	58,83	99,00				
Glicemia (máxima)	média	465,92 <sup>a</sup>	401,31 <sup>b</sup>				
	T1	476,83	382,75	20,59	0,0261	0,7814	0,2900
	T2	455,00	419,87				

EPM= erro padrão da média; Trat.= tratamento; PB= grupo placebo; BG= grupo beta-glucanos. Valores de p<0,05 significativos.



**Figura 5.** Glicemia intersticial média obtida pelo sistema de mensuração contínua (SMCG) em cães diabéticos nas 72 horas avaliadas na fase 1.

Fonte: Olivindo (2022)



**Figura 6.** Glicemia intersticial média obtida pelo sistema de mensuração contínua (SMCG) em cães diabéticos nas 72 horas avaliadas na fase 2.

Fonte: Olivindo (2022)

### 3.3.7.1.2.2 VARIÁVEIS GLICÊMICAS CONVECIONAIS

As curvas glicêmicas convencionais foram realizadas por meio de coletas de sangue venoso em seis tempos, sendo o primeiro (T0) em jejum de 12 horas e os outros cinco tempos com intervalo de duas horas, contados a partir da primeira refeição (T2, T4, T6, T8, T10 horas).

Na Tabela 11 podemos observar os resultados das variáveis glicêmicas médias obtidas por meio da comparação das curvas glicêmicas convencionais realizadas após os animais terem recebido os dois tratamentos do estudo (Figura 9) e, não foram observadas diferenças em relação às glicemias de jejum, médias, mínimas ou mesmo máximas, em relação ao tratamento, tempo ou interação tempo e tratamento.

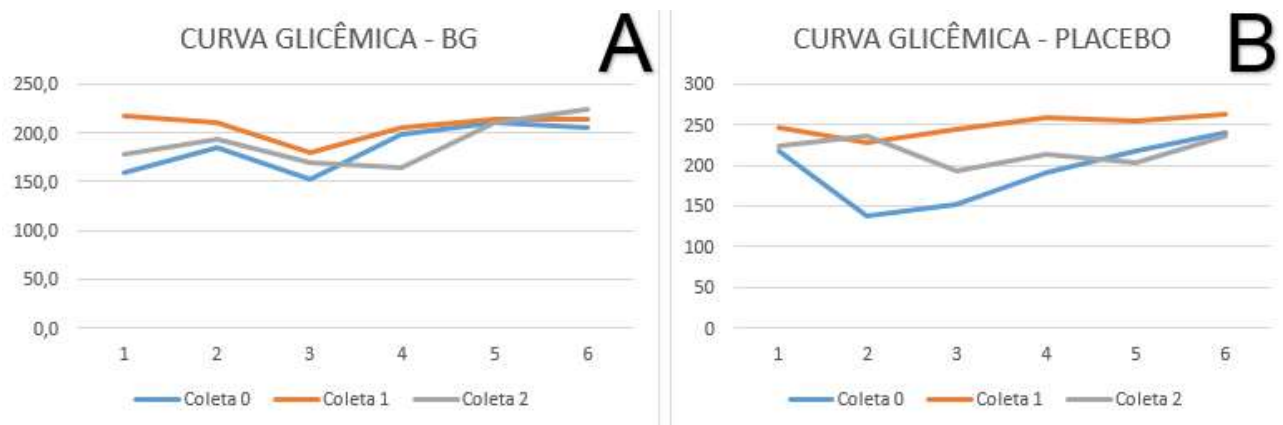
Já em relação às áreas abaixo das curvas glicêmicas obtidas nos dois tratamentos, pode-se observar na Figura 10, área menor do grupo suplementado com beta-glucanos em T1 (2050) quando comparada a do grupo placebo (2483) e, o mesmo pode ser observado

na Figura 11, pois a área abaixo da curva do grupo beta-glucanos (1876) em T2 também foi menor do que a área do grupo placebo (2151).

**Tabela 11.** Variáveis glicêmicas obtidas por curva glicêmica convencional nos dois grupos experimentais.

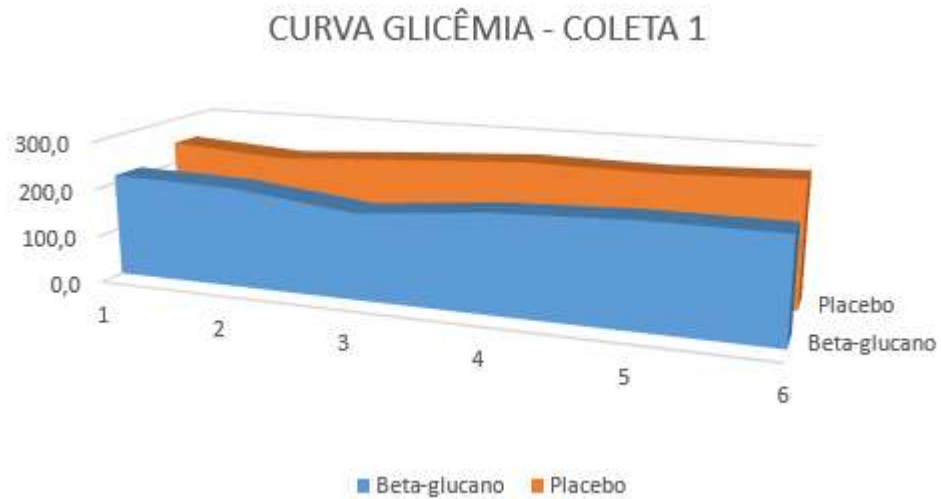
Variável (mg/dL)	Tempo	Tratamento		EPM	Valor de p		
		PB	BG		Trat	Tempo	Trat*tempo
Glicemia (jejum)	média	228,13	186,13	29,05	0,2959	0,3093	0,8900
	T0	216,80	164,37				
	T1	244,30	216,58				
	T2	223,30	177,42				
Glicemia (média)	média	220,37	192,50	24,019	0,3977	0,2342	0,7080
	T0	192,68	183,86				
	T1	250,88	204,28				
	T2	217,53	189,35				
Glicemia (mínima)	média	154,13	120,09	25,86	0,3394	0,0798	0,2578
	T0	110,93	113,88				
	T1	200,31	128,62				
	T2	151,15	117,75				
Glicemia (máxima)	média	294,87	274,01	19,199	0,4170	0,8008	0,9931
	T0	285,45	260,47				
	T1	296,95	277,28				
	T2	302,20	284,27				

EPM= erro padrão da média; Trat.= tratamento; PB= grupo placebo; BG= grupo beta-glucanos. Valores de  $p < 0,05$  significativos.



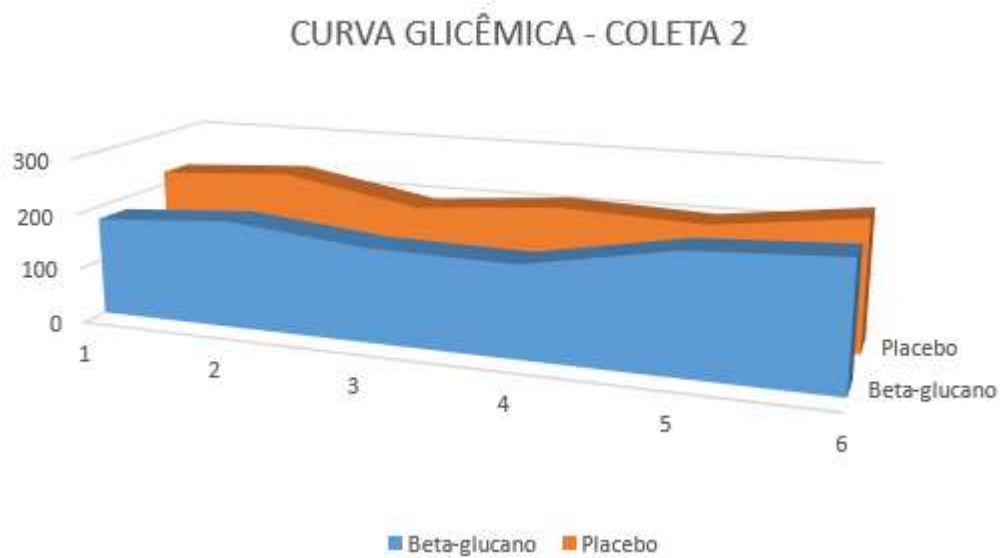
**Figura 7.** Curvas glicêmicas médias (coletas 0,1 e 2) - evolução do parâmetro dentro dos grupos.

Fonte: Olivindo (2022)



**Figura 9.** Áreas abaixo da curva das glicemias obtidas na coleta 1.

Fonte: Olivindo (2022)



**Figura 10.** Áreas abaixo da curva das glicemias obtidas na coleta 2.

Na literatura, diversos estudos utilizaram os beta-glucanos com o objetivo de explorar seus possíveis efeitos hipoglicemiantes. Todavia, publicações de estudos que avaliaram beta-glucanos purificados de levedura são escassos. Em sua maioria se referem a trabalhos realizados com camundongos, como o publicado por Kaya et al. (2016), no qual utilizaram camundongos diabéticos ob/ob (modelo de estudo para obesidade e diabetes) e observaram melhora significativa da tolerância à glicose, além da diminuição na glicemia, atestando portanto que os beta-glucanos são capazes de produzir este efeito em jejum e no período pós-prandial. A dose utilizada nos camundongos (25mg/dia) foi superior a utilizada no presente estudo e, o teste de tolerância oral a glicose foi realizado 15 dias após o início do tratamento.

Em outro estudo, também com camundongos, encontrou-se correlação deste efeito hipoglicêmico à supressão da expressão do transportador de sódio-glicose 1 (SGLT1) na mucosa intestinal, quando fornecido por via oral. Os autores empregaram dose de 50mg/kg por dia de beta-glucanos de leveduras associados ao alimento (60% de gordura, 20% de carboidratos e 20% de proteína) por 80 dias (CAO et al., 2016).

Em cães, o estudo já citado anteriormente apontou efeito da ingestão de beta-glucanos na redução da glicemia de jejum. A dose de beta-glucanos utilizada foi de 15mg/kg, durante 71 dias. O mesmo foi observado no presente trabalho, já que a glicemia de jejum média no grupo placebo (228,13mg/dL) foi menor quando comparada ao grupo beta-glucanos (186,13mg/dL), assim como a glicemia média (192,50mg/dL), mínima (120,09mg/dL) e máxima (274,01mg/dL) no grupo beta-glucanos apresentou-se menor quando comparada ao grupo placebo (220,37mg/dL; 154,13mg/dL; 294,87 mg/dL, respectivamente), apesar de não haver diferença em nenhum dos parâmetros ao se

comparar os tratamentos, glicemia de jejum ( $p= 0,2959$ ), glicemia média ( $p= 0,3977$ ), glicemia mínima ( $p= 0,3394$ ) e glicemia máxima ( $p= 0,417$ ).

Além dos efeitos relacionados ao metabolismo lipídico e glicídico, os beta-glucanos também apresentam efeitos imunomoduladores que dependem da sua origem e estrutura. Em geral eles tem os macrófagos como alvos biológicos, os quais são imprescindíveis para o controle de infecções, por isso, a sua aplicação já foi estudada em infecções por *Leishmania major* (AL TUWAIJRI et al., 1987), *Streptococcus suis* (DRITZ et al., 1995) e *Staphylococcus aureus* (LIANG et al., 1998).

É importante ressaltar que os diversos efeitos dos beta-glucanos estão atribuídos principalmente a sua origem e, os beta-glucanos que tem maior efeito hipoglicemiante são os originários dos cereais. Com relação a estes, o número de estudos é maior em humanos diabéticos do tipo 1, sendo que em um deles, por exemplo, estes foram tratados com 1,53g de beta-glucanos de aveia fornecidos três vezes ao dia, embora a glicemia não apresentou um bom controle quando comparada ao grupo placebo (FRID et al., 2017).

Contudo, apesar de utilizarmos neste estudo os obtidos de leveduras, observamos resultados expressivos sobre a glicemia e sobre os triglicérides séricos dos pacientes avaliados, assim como também foi observado no estudo de De Oliveira Silva et al. (2015) ao avaliar os efeitos da ingestão oral de beta-glucanos isolados de *Saccharomyces cerevisiae* sobre o perfil metabólico, expressão de marcadores inflamatórios gengivais e quantidade de perda óssea alveolar em ratos diabéticos com doença periodontal.

#### **4. CAPÍTULO III: SANGUE CAPILAR DA EXTREMIDADE DISTAL DA CAUDA COMO ALTERNATIVA PARA MONITORAMENTO GLICÊMICO EM CÃES DIABÉTICOS**

Devido a variabilidade glicêmica ser uma métrica importante para o monitoramento do diabetes mellitus canino e, sabendo-se que a utilização do sangue capilar é uma técnica utilizada para o monitoramento dos pacientes caninos diabéticos tanto em ambiente hospitalar quanto em ambiente domiciliar, são necessários mais estudos para validação de novos locais para utilização do sangue capilar para o monitoramento destes pacientes.

Dois locais que são bastante utilizados para mensuração glicêmica domiciliar são os coxins carpais (BORIN-CRIVELLENTI et al., 2012) e a face medial das orelhas (WESS & REUSCH, 2000). O primeiro foi validado e apresentou correlação positiva com o segundo, além de não ter apresentado diferença nos valores de glicemia obtidos das amostras de sangue coletadas nos dois locais. Segundo Borin-Crivellenti et al. (2012), a mensuração glicêmica do sangue venoso, sangue capilar da face medial da orelha e do coxim carpal apresentaram excelente correlação com o método enzimático colorimétrico.

Desta forma, este capítulo foi escrito em paralelo ao desenvolvimento da tese com a finalidade de estabelecer uma possível correlação entre o sangue capilar da extremidade distal da cauda, método este já bastante utilizado na rotina clínica devido sua boa tolerância pelos animais e praticidade e, outros métodos já validados.

#### **4.1 HIPÓTESE**

O sangue capilar da ponta da cauda apresenta uma boa correlação com resultados obtidos em amostras de sangue venoso central avaliadas pelo método laboratorial (enzimático colorimétrico) e pelo método portátil, por meio do aparelho *Freestyle Optium Neo*®.

#### **4.2 OBJETIVOS**

Avaliar a precisão analítica dos valores glicêmicos obtidos por meio de teste comparativo entre sangue capilar coletado da ponta da cauda, com glicosímetro validado e, comparar com valores glicêmicos obtidos através do sangue venoso central por método portátil e sangue venoso central por método laboratorial.



## 4.3 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.3.1 PACIENTES DO ESTUDO

Este é um estudo clínico que empregou amostras provenientes do “n” amostral do projeto de doutorado, onde foram utilizadas 48 curvas glicêmicas de 6 animais (Quadro 1), totalizando 288 mensurações glicêmicas obtidas a partir de cães naturalmente diabéticos e sem comorbidades associadas. Os animais foram selecionados e estabilizados seguindo o mesmo protocolo já descrito anteriormente.

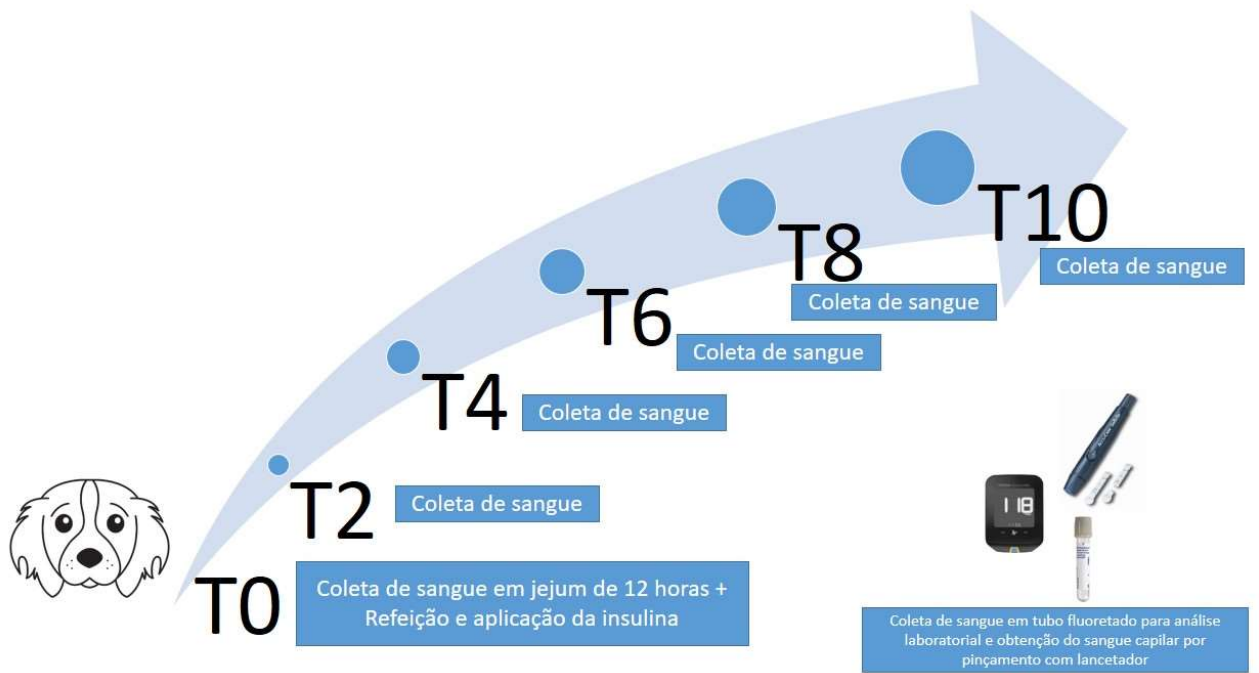
Tabela 16 – Descrição dos pacientes inclusos no estudo de glicemia capilar da extremidade distal da cauda.

Paciente	Sexo	Raça	Idade	Peso (Kg)	ECC
4	FC	Pastor Alemão	7	37,5	5
7	FC	SRD	11	17,5	5
8	MC	SRD	9	7,6	4
9	FC	SRD	9	8,8	4
10	FC	Lhasa Apso	13	5,0	4
15*	FC	Yorkshire T.	7	8,3	5

Legenda: MC: Macho castrado; MI: Macho inteiro; FC: Fêmea castrada; UI: Unidades internacionais; BID: a cada 12 horas; \*Paciente 15 foi excluído posteriormente do estudo.

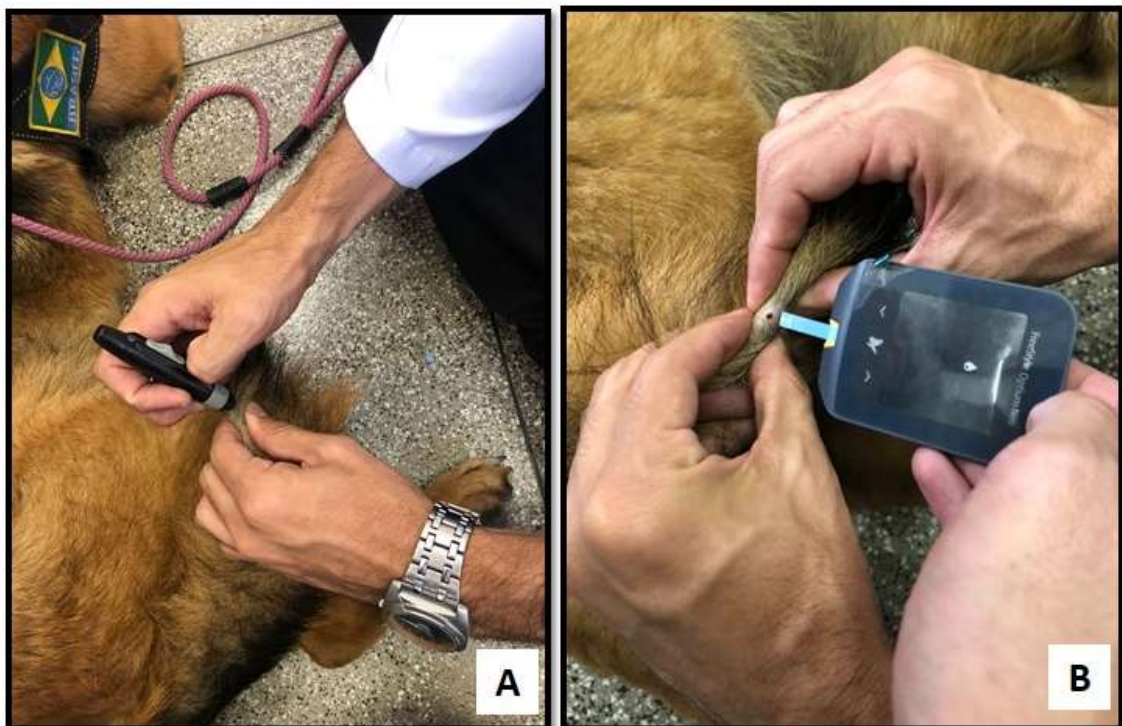
#### 4.3.2. PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Foram empregados 6 cães para a obtenção das amostras sanguíneas, estes animais foram utilizados em mais de um momento para obtenção destas amostras, pois os mesmos foram acompanhados por mais de 140 dias após a estabilização. Nos dias das coletas os tutores eram orientados a trazer o paciente em jejum de 12 horas para assim realizarmos coleta de sangue venoso central, por meio da veia jugular, utilizando-se seringa de 5mL e realizando acondicionamento em tubo fluoretado para processamento imediato no Laboratório Clínico do Departamento de Clínica Médica/HOVET-FMVZ/USP e, as amostras do sangue capilar da ponta da cauda foram obtidas por pinçamento, utilizando-se lancetador da *FreeStyle Optium Neo*® e imediata mensuração da glicemia por meio do glicosímetro da mesma marca. Parte do sangue venoso central foi utilizado para mensurar a glicemia utilizando o mesmo glicosímetro e todos os procedimentos foram feitos de forma simultânea. As curvas glicêmicas ambulatoriais e laboratoriais foram realizadas em seis tempos a cada 2 horas (T0, T2, T4, T6, T8, T10; Figura 1), conforme já descrito. A figura 12 ilustra o momento de obtenção de sangue capilar por pinçamento em um dos animais inclusos neste estudo.



**Figura 11.** Fluxograma de execução da curva glicêmica

Fonte: Olivindo (2022)



**Figura 12.** Pinçamento de cauda para obtenção de glicemia capilar

Fonte: Olivindo (2022)

#### 4.4 RESULTADOS

As análises da glicemia laboratorial foram realizadas no Laboratório Clínico do Departamento de Clínica Médica/HOVET-FMVZ/USP, por meio de analisador bioquímico automatizado da marca Labtest, modelo Labmax 240, fabricação tokio-boeki, utilizando kit da marca Labtest, por método colorimétrico enzimático GOD-Trinder. Já com relação às amostras obtidas pelo método portátil, as mensurações da concentração de glicose do sangue venoso central e sangue capilar da ponta da cauda foram realizadas pelo glicosímetro *FreeStyle Optium Neo*®.

As amostras de sangue capilar da ponta da cauda foram de fácil obtenção utilizando-se lancetadores da marca *FreeStyle Optium Neo*® e todos os cães toleraram este método durante a coleta. Nos casos em que o sangue inicial após o pinçamento fornecia uma quantidade pequena, foi realizada suave pressão na região para conseguir o volume adequado para a mensuração. Nos retornos dos pacientes não foram observadas lesões que caracterizassem quadro de infecção na região.

As mensurações glicêmicas obtidas da ponta da cauda por glicosímetro (GC), do sangue venoso central por punção da jugular mensurado em glicosímetro (GJ) e pelo método padrão ouro [colorimétrico enzimático por técnica GOD-Trinder (PO)] apresentaram valores similares (GC= 229,05; GJ= 225,92 e PO= 209,08). Aceita-se, portanto, a possibilidade de se aferir a glicose capilar da ponta da cauda por ter demonstrado ser um bom parâmetro quando comparada com os demais métodos estudados e que já são validados para uso em cães diabéticos.

Pode-se observar na Tabela 12 que o erro padrão da média geral (EPM) encontrado foi de 25,90. Este alto valor pode ser explicado pela variação do parâmetro avaliado (glicemia), pois como relatado, os dados utilizados são de curvas glicêmicas e estas

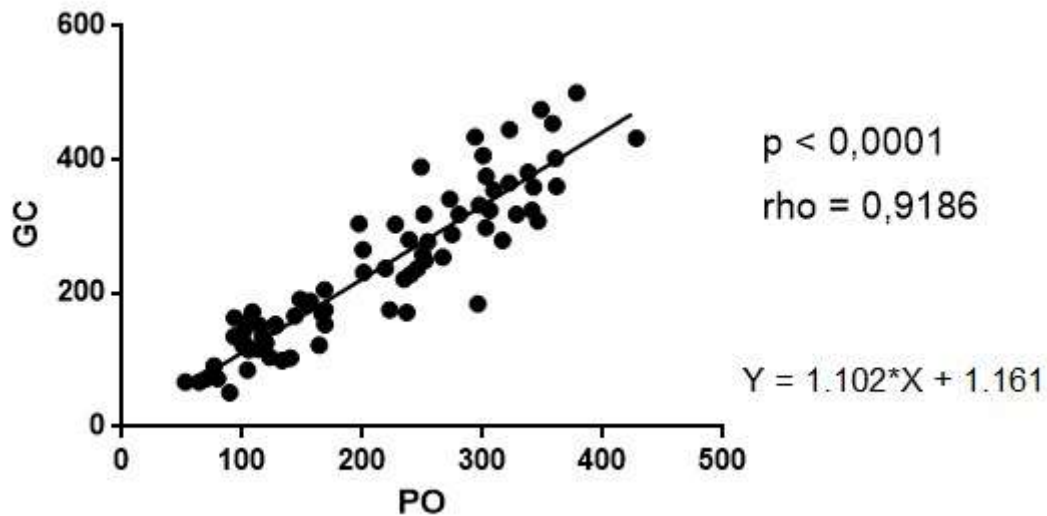
apresentam variação fisiológica importante ao longo do dia em razão das refeições. Em relação a análise dos tratamentos ( $p=0,842$ ) e interação tratamento x tempo ( $p=0,976$ ), não houve diferença entre as metodologias, porém quando analisadas somente as variações em relação ao tempo ( $p=0,002$ ) foram observadas diferenças, o que já era esperado devido as variações da glicemia ao longo do dia.

**Tabela 12.** Glicemias médias obtidas por meio dos diferentes métodos de determinação.

Variável	Tempo	Tratamento			EPM	Valor de p		
		GJ	GC	PO		Trat	Tempo	Trat*tempo
Glicemia (mg/dL)	Média	225,92	229,05	209,08				
	T0	241,00	252,69	220,95				
	T1	205,84	226,69	189,26				
	T2	187,92	195,38	182,28	25,909	0,8427	0,0025	0,976
	T3	212,30	209,07	204,33				
	T4	256,69	236,23	224,15				
	T5	251,76	249,58	233,46				

GJ= glicemia da jugular avaliada em glicosímetro no T0; GC= glicemia capilar da ponta da cauda; PO= padrão ouro (método enzimático colorimétrico); Trat= tratamento.

Quando comparada a amostragem da glicose no sangue capilar da cauda com sangue venoso central nos aparelhos portáteis, observou-se através do teste de correlação de Pearson, correlação positiva quando comparada com o padrão ouro, com sangue venoso central utilizando-se o método enzimático colorimétrico GOD-Trinder (Figura 12).



**Figura 13.** Análise de correlação entre as metodologias glicemia da ponta da cauda (GC) e padrão ouro (PO).

Fonte: Olivindo (2022)

O uso do sangue capilar como opção para monitoramento da glicemia de cães diabéticos já é bem validada em outros locais de coleta, como coxins (BORIN-CRIVELLENTI et al., 2012) e face medial do pavilhão auricular (WESS & REUSCH, 2000) e, devido ao fato de ser uma técnica difundida entre os veterinários e de fácil execução, é um método exequível pelos tutores e, portanto, uma excelente forma de monitoramento da glicemia domiciliar. Associado a este aspecto, alguns estudos relataram boa correlação entre as concentrações de glicose do sangue capilar e venoso, fomentando mais a utilização do sangue capilar como um método de boa acurácia para monitoramento destes pacientes (CASELLA et al., 2002).

Observa-se na prática clínica a utilização do sangue capilar da ponta da cauda com maior frequência por ser um método prático e que o tutor facilmente consegue obter volume adequado de sangue para mensuração da glicemia por meio do uso de lancetas e glicosímetro. A facilidade relatada pelos tutores contrasta com as informações obtidas em outro estudo que avaliou a utilização do sangue capilar dos coxins carpais. Os autores

apontaram dificuldades no posicionamento adequado e na determinação da profundidade da punção, provavelmente devido às diferentes texturas, por isso optaram por utilizar agulha hipodérmica, o que foi bem tolerado pelos pacientes, assim como também foi observado durante a execução deste estudo durante o pinçamento da pele na ponta da cauda (BORIN-CRIVELLENTI et al., 2012).

Apesar de não existir, até o presente momento, validação para a utilização da ponta da cauda, este estudo traz resultados que corroboram os de outros trabalhos que avaliaram sangue capilar. Além disso, observou-se valores similares de glicemia no sangue capilar obtido da ponta da cauda, sangue venoso central mensurado por glicosímetro e por método enzimático, o que fomenta a necessidade de mais estudos que tragam novas análises sobre outros locais que facilitem a mensuração glicêmica de pacientes caninos diabéticos, assim como temos em seres humanos o uso de locais alternativos como a região tenar e hipotenar da palma da mão, braço, antebraço, panturrilhas e coxa (LAGUNA NETO et al., 2009).

Quando analisadas as amostras de sangue capilar mensuradas por meio do glicosímetro e comparadas com as de sangue venoso central, determinadas por método laboratorial, foram observadas glicemias médias superiores no primeiro método. Estes resultados corroboram os dados do estudo de Oliveira et al. (2015), que justificaram este achado devido a imediata mensuração através do uso de glicosímetro, enquanto que o sangue em fluoreto foi encaminhado ao laboratório para centrifugação e processamento bioquímico e, este maior tempo pode ter resultado em metabolização da glicose.

## 5. PROTEÍNAS GLICADAS UTILIZADAS PARA O MONITORAMENTO DOS PACIENTES DO ESTUDO

As proteínas glicadas, hemoglobina glicada e frutossamina, foram avaliadas ao longo do estudo, tanto no grupo placebo (Tabela 13) quanto no grupo beta-glucanos (Tabela 14) e observamos que, mesmo com controle constante frente a dose de insulina, ingestão dietética padronizada e indicada para o controle glicêmico, rotina de acompanhamentos e monitoramento dos pacientes, em ambos os grupos houveram pacientes com valores de proteínas glicadas fora do intervalo de referência, sendo que 5/7 dos pacientes pertencentes ao grupo beta-glucanos apresentaram em pelo menos uma coleta, concentrações alteradas e, no grupo placebo em 4/5.

Já em relação às concentrações de frutossamina, observou-se que 9/18 pacientes/momentos de avaliação do grupo placebo apresentaram valores considerados indesejáveis ( $>500\mu\text{mol/L}$ ) e os demais, apresentaram-se com excelente controle [2/18 ( $350-400\mu\text{mol/L}$ ); bom controle [1/18 ( $400-450\mu\text{mol/L}$ )] e com controle regular [6/18 ( $450-500\mu\text{mol/L}$ )]. Já em relação aos pacientes do grupo beta-glucanos, excelente controle foi observado em 3/24 ( $350-400\mu\text{mol/L}$ ); bom controle em 5/24 ( $400-450\mu\text{mol/L}$ ); valores indesejáveis 13/24 ( $>500\mu\text{mol/L}$ ); regular 2/24 ( $450-500\mu\text{mol/L}$ ) e em hipoglicemia 1/24 ( $<300\mu\text{mol/L}$ ).

Portanto, os nossos resultados corroboram os da literatura, já que o kit utilizado para avaliação da hemoglobina glicada é para espécie humana, logo este pode ser um fator que resulte em valores fora do intervalo de referência. Em relação à frutossamina como parâmetro para monitoramento, também observamos implicações frente às possíveis interferências sofridas neste parâmetro decorrentes da dislipidemia, condição observada



nos pacientes do nosso estudo e que podem implicar na taxa de renovação das proteínas séricas (KIM et al., 2019; NEUMANN, 2020).

**Tabela 13.** Concentrações plasmáticas médias de hemoglobina glicada e frutossamina sérica observadas nas fases 0,1 e 2 no grupo beta-glucano e placebo.

Tratamento	Fase 0		Fase 1		Fase 2	
	Hemoglobina glicada	Frutosamina	Hemoglobina glicada	Frutosamina	Hemoglobina glicada	Frutosamina
B-glucanos	6,36	505	7,3	506	6,5	549
Placebo	7,27	542	6,86	547	6,88	452

Intervalo de referência para hemoglobina glicada: 5,3-7,1%; Frutossamina - excelente controle: 350-400µmol/L (Fonte: Laboratório PROVET Veterinária diagnóstica/hemoglobina glicada; Laboratório Clínico do Departamento de Clínica Médica/HOVET-FMVZ/USP/frutossamina).

## 6. CONCLUSÕES GERAIS

Os resultados deste trabalho demonstraram que a suplementação de beta-glucanos na dose de 15mg/kg/dia não resultou em alterações de peso e escore de condição corporal dos pacientes tratados. Todavia, observou-se redução nas concentrações séricas de triglicérides, o que pode sugerir a possibilidade de uso nos quadros de hipertrigliceridemia.

Em relação a possível ação hipoglicemiante, observou-se que, apesar de não haver diferença entre os tratamentos, os pacientes suplementados apresentaram redução nas variáveis glicemia média, mínima e máxima, quando comparados com os não suplementados.

Além disso, o sangue capilar da extremidade distal da cauda pode ser considerado um bom local alternativo para o monitoramento da glicemia de pacientes caninos diabéticos, já que não houve diferença significativa entre os valores médios das glicemias determinadas no sangue capilar da extremidade distal da cauda quando comparadas com as glicemias do sangue venoso central analisadas em glicosímetro e pelo método enzimático colorimétrico.

## ANEXO I. INTERVALOS DE REFERÊNCIA PARA VARIÁVEIS SÉRICAS.

**Tabela 14.** Valores de referência utilizados no HOVET-USP para proteína total, albumina, ALT, FA, ureia, creatinina, glicose, triglicérides e colesterol.

PARÂMETRO	UNIDADE	REFERÊNCIA
Proteína total	g/dL	5,3-7,6
Albumina	g/dL	2,3-3,8
ALT	U/L	10-88
Fosfatase alcalina	U/L	20,150
Ureia	mg/dL	20-40
Creatinina	mg/dL	0,7-1,4
Glicose	mg/dL	70-100
Triglicérides	mg/dL	40-169
Colesterol	mg/dL	125-270

## 7. REFERÊNCIAS

- ADA. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. **Diabetes Care**, v. 33, n. SUPPL. 1, 2010.
- AGUIRRE, A. L. et al. GB Disease in Shetland Sheepdogs 2007 JAVMA. p. 79–88, 2005.
- AIRES, M. M. **Fisiologia - Margarida de Melo Aires, 4a ed.** [s.l: s.n.]
- AKRAMIENĖ, D. et al. Effects of beta-glucans on the immune system. **Medicina (Kaunas)** **2007**; v. 43, n. 8, p. 597–605, 2007.
- AL TUWAIJRI, A. S. et al. Effect of glucan on Leishmania major infection in BALB/c mice. **Journal of Medical Microbiology**, v. 23, n. 4, p. 363–365, 1987.
- ALEIXO, G. S. et al. Uso Do Glicosímetro Portátil Para Determinar a Concentração De Glicose No Sangue De Cães. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 3, p. 537–545, 2010.
- ALMEIDA, K. A. et al. The S447X polymorphism of lipoprotein lipase: Effect on the incidence of premature coronary disease and on plasma lipids. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 88, n. 3, p. 267–273, 2007.
- ANDERSON, J. W. et al. Long-term cholesterol-lowering effects of psyllium as an adjunct to diet therapy in the treatment of hypercholesterolemia. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 71, n. 6, p. 1433–1438, 2000.
- ANDRADE, E. F.; ORLANDO, D. R. Beta-Glucans as a therapeutic agent: Literature Review. **Madridge Journal of Food Technology**, v. 3, n. 2, p. 153–157, 2018.
- ANTHONSEN, M. W. et al. Identification of novel phosphorylation sites in hormone-sensitive lipase that are phosphorylated in response to isoproterenol and govern activation properties in vitro. **Journal of Biological Chemistry**, v. 273, n. 1, p. 215–221, 1998.
- ARAUJO, T. V. D. E. EFEITO DA INGESTÃO DE BETA GLUCANOS ( *Saccharomyces cerevisiae* ) SOBRE PARÂMETROS METABÓLICOS DE RATOS. 2014.

ARGOLLO, A. P. B. et al. Portable blood glucose meter values using different sampling ways: a validity study. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 22, n. 4, p. 351–357, 2010. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-507X2010000400007&lng=en&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-507X2010000400007&lng=en&nrm=iso&tlng=pt)>.

BAILHACHE, E. et al. Metabolism of cholesterol of apolipoprotein B100-containing lipoproteins in does: Evidence for disregarding cholesterol transfer. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 34, n. 8, p. 527–534, 2004.

BALDWIN, K. et al. AAHA Nutritional Assessment Guidelines for Dogs and Cats Special Report. **Journal of feline medicine and surgery**, v. 46, p. 285–296, 2010.

BARBOSA, R.; UEM, B. Contra-regulação glicêmica. p. 11–23, 2005.

BARRIE, T. D. G.; J., W. and. Lipoprotein metabolism and hyperlipidaemia in the a dog and cat: A review. **Journal of Small Animal Practice**, v. 34, p. 479-487, 1993.

BATTILANA, P. et al. Original Communication Mechanisms of action of b bglucan in postprandial glucose metabolism in healthy men. [s.l: s.n.].

BAUER, J. E. Comparative Lipid and Lipoprotein Metabolism. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 25, n. 2, p. 49–56, 1996.

BEHREND, E. et al. 2018 AAHA Diabetes Management Guidelines for Dogs and Cats. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 54, n. 1, p. 1–21, 2018.

BEITZ, D. C. Metabolismo lipídico. In: REECE, W. O. (Ed.). **Dukes Fisiologia dos animais domésticos**. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. p. 476–492.

BELTRAME, O. C. et al. Hemoglobina glicada e frutossamina em cães com Diabetes mellitus. **Ciencia Animal Brasileira**, v. 16, n. 4, p. 548–552, 2015.

BERNAUD, F. S. R.; RODRIGUES, T. C. Fibra alimentar - Ingestão adequada e efeitos

sobre a saúde do metabolismo. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v. 57, n. 6, p. 397–405, 2013.

BEYNEN, a C. et al. Dietary Beta-1, 3 / 1, 6-Glucans Reduce Clinical Signs of Canine Atopy Department of Animal Science , Faculty of Natural Resources , Rajamangala University of Technology Isan , Sakon Nakhon , Thailand Vobra Special Petfoods BV , Veghel , Netherlands Orf. v. 6, n. 4, p. 146–152, 2011.

BLUWOL, K. et al. Evaluation of two portable meters for blood glucose measurements in dogs. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia**, v. 59, n. 6, p. 1408–1411, 2007.

BODKIN, K. Seizures Associated with Hyperlipoproteinemia in A Miniature Schnauzer. **Canine Practice**, v. 17, n. 1, p. 11–15, 1992.

BORIN-CRIVELLENTI, S.; CRIVELLENTI, L. Z.; TINUCCI-COSTA, M. The carpal pad as an alternative sampling site for blood glucose testing in dogs. **Journal of Small Animal Practice**, v. 53, n. 12, p. 684–686, 2012.

BORIN, S. et al. Capillary blood glucose and venous blood glucose measured with portable digital glucometer in diabetic dogs. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**, v. 5, n. 2, p. 42–46, 2012.

BROWN, L. et al. Cholesterol-lowering effects of dietary fiber: a meta-analysis. **Am J Clin Nutr.** 1999 Jan;69(1):30-42. doi: 10.1093/ajcn/69.1.30

CANAAN, M. M. et al. Yeast beta-glucans ingestion does not influence body weight: A systematic review and meta-analysis of pre-clinical studies. **Nutrients**, v. 13, n. 12, 2021.

CAO, Y. et al. Hypoglycemic activity of the Baker's yeast  $\beta$ -glucan in obese/type 2 diabetic mice and the underlying mechanism. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 60, n. 12, p. 2678–2690, 2016.

CAO, Y. et al. Orally Administered Baker's Yeast  $\beta$ -Glucan Promotes Glucose and Lipid

Homeostasis in the Livers of Obesity and Diabetes Model Mice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, n. 44, p. 9665–9674, 2017.

CARCIOFI, A. C. et al. Effects of six carbohydrate sources on dog diet digestibility and post-prandial glucose and insulin response. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 92, n. 3, p. 326–336, 2008.

CARVALHEIRA, J. B. C.; ZECCHIN, H. G.; SAAD, M. J. A. Vias de Sinalização da Insulina. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 46, n. 4, p. 419–425, 2002.

CASELLA, M.; WESS, G.; REUSCH, C. E. Measurement of capillary blood glucose concentrations by pet owners: A new tool in the management of diabetes mellitus. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 38, n. 3, p. 239–245, 2002.

CATANOZI, S. Dislipidemias. In: JERICO, M. M.; NETO, J. P. DE A.; KOGIKA, M. M. (Ed.). **Tratado de medicina interna de cães e gatos**. 1. ed. São Paulo: Roca, 2015. p. 1780–1793.

CATCHPOLE, B. et al. Canine diabetes mellitus: From phenotype to genotype. **Journal of Small Animal Practice**, v. 49, n. 1, p. 4–10, 2008.

CATCHPOLE, B. et al. Genetics of canine diabetes mellitus: Are the diabetes susceptibility genes identified in humans involved in breed susceptibility to diabetes mellitus in dogs? **Veterinary Journal**, v. 195, n. 2, p. 139–147, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.11.013>>.

CHANDALIA M, GARG A, LUTJOHANN D, VON BERGMANN K, GRUNDY SM, BRINKLEY LJ. Beneficial effects of high dietary fiber intake in patients with type 2 diabetes mellitus. **N Engl J Med**. 2000 May 11;342(19):1392-8. doi: 10.1056/NEJM200005113421903. PMID: 10805824.

CHANG, H. C. et al. Oat Prevents Obesity and Abdominal Fat Distribution, and Improves Liver Function in Humans. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 68, n. 1, p. 18–23, 2013.

CLOETENS, L. et al. Role of dietary beta-glucans in the prevention of the metabolic

syndrome. **Nutrition Reviews**, v. 70, n. 8, p. 444–458, 2012.

COOK, A. K. et al. Risk factors associated with acute pancreatitis in dogs: 101 cases (1985-1990). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 203, n. 5, p. 673–679, 1993.

COOK, A. K. Monitoring methods for dogs and cats with diabetes mellitus. **Journal of Diabetes Science and Technology**, v. 6, n. 3, p. 491–495, 2012.

CORRADINI, S. et al. **Accuracy of a Flash Glucose Monitoring System in Diabetic Dogs** *Journal of veterinary internal medicine*, 2016a. .

CORRADINI, S. et al. Accuracy of a Flash Glucose Monitoring System in Diabetic Dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, maio 2016b.

CRAKES, K. R. et al. Fenofibrate promotes PPAR $\alpha$ -targeted recovery of the intestinal epithelial barrier at the host-microbe interface in dogs with diabetes mellitus. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–12, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41598-021-92966-7>>.

CRISPIN, S. M. Ocular Manifestations of Hyperlipoproteinemia. **Journal of Small Animal Practice**, v. 34, n. 10, p. 500–506, 1993.

CUMMINGS, J. H.; MACFARLANE, G. T.; ENGLYST, H. N. Prebiotic digestion and fermentation. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, n. 2 SUPPL., p. 415–420, 2001.

CURI, R. **Fisiologia Básica**. [s.l: s.n.]

DAVISON, L. J. et al. Anti-insulin antibodies in dogs with naturally occurring diabetes mellitus. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 91, n. 1, p. 53–60, 2003.

DE ARAÚJO, T. V. et al. Effects of beta-glucans ingestion (*Saccharomyces cerevisiae*) on metabolism of rats receiving high-fat diet. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 101, n. 2, p. 349–358, 2017.



DE MARCO, V. et al. Therapy of Canine Hyperlipidemia with Bezafibrate. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 31, n. 3, p. 717–722, 2017.

DE OLIVEIRA SILVA, V. et al.  $\beta$ -Glucans (*Saccharomyces cerevisiae*) reduce glucose levels and attenuate alveolar bone loss in diabetic rats with periodontal disease. **PLoS ONE**, v. 10, n. 8, p. 1–13, 2015.

DE OLIVEIRA, Y. S. G. et al. Comparação entre os métodos laboratorial e portátil na análise da glicemia em felinos com amostras de sangue venoso central e capilar. **Ciencia Animal Brasileira**, v. 16, n. 2, p. 279–286, 2015.

DE SOUZA THEODORO, S. et al. Effects of the solubility of yeast cell wall preparations on their potential prebiotic properties in dogs. **PLoS ONE**, v. 14, n. 11, p. 1–19, 2019.

DENYER, A. L. et al. Dog leucocyte antigen (DLA) class II haplotypes and risk of canine diabetes mellitus in specific dog breeds. **Canine Medicine and Genetics**, v. 7, n. 1, p. 1–13, 2020.

DRITZ, S. S. et al. Influence of dietary beta-glucan on growth performance, nonspecific immunity, and resistance to *Streptococcus suis* infection in weanling pigs. **Journal of animal science**, v. 73, n. 11, p. 3341–3350, 1995.

ELLIOTT, K. F. et al. Use of a meal challenge test to estimate peak postprandial triglyceride concentrations in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 72, n. 2, p. 161–168, fev. 2011.

ELLIOTT, K. F. et al. A diet lower in digestible carbohydrate results in lower postprandial glucose concentrations compared with a traditional canine diabetes diet and an adult maintenance diet in healthy dogs. **Research in Veterinary Science**, v. 93, n. 1, p. 288–95, ago. 2012.

ERBACH, M. et al. Interferences and limitations in blood glucose self-testing: An overview of the current knowledge. **Journal of Diabetes Science and Technology**, v. 10, n. 5, p.

1161–1168, 2016.

ESTRADA, A. et al. Immunomodulatory activities of oat  $\beta$ -glucan in vitro and in vivo. **Microbiology and Immunology**, v. 41, n. 12, p. 991–998, 1997.

FALL, T. et al. Diabetes mellitus in a population of 180,000 insured dogs: Incidence, survival, and breed distribution. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 21, n. 6, p. 1209–1216, 2007.

FASCETTI; J., A.; DELANEY, S. J. **Applied Veterinary Clinical Nutrition**. [s.l: s.n.]

FELDMAN. Canine diabetes mellitus. In: FELDMAN, E. C. et al. (Ed.). **Canine and Feline Endocrinology**. 4. ed. St. Louis: Elsevier, 2015. p. 214–257.

FERREIRA, C. S. **Suplementação de betaglucano e variáveis metabólicas de cães obesos com resistência insulínica** Ferreira, C. S. (2016). **Suplementação de betaglucano e variáveis metabólicas de cães obesos com resistência insulínica**. Universidade Estadual Paulista “Julio de . 2016. Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, 2016.

FERREIRA, C. S. et al. Metabolic variables of obese dogs with insulin resistance supplemented with yeast beta-glucan. **BMC Veterinary Research**, v. 18, n. 1, p. 1–10, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s12917-021-03106-2>>.

FERREIRA, L. G. et al. **Oat beta-glucan as a dietary supplement for dogs** PLoS ONE, 2018.

FERREIRA, P. A. et al. Glicemia do sangue capilar e venoso de cães saudáveis: mensuração por método eletroquímico versus enzimático laboratorial. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 3, p. 1287–1292, 2013.

FRID, A. et al. **Effect of oral pre-meal administration of betaglucans on glycaemic control and variability in subjects with type 1 diabetes** Nutrients, 2017.

GELLER, A.; YAN, J. Could the Induction of Trained Immunity by  $\beta$ -Glucan Serve as a Defense Against COVID-19? **Frontiers in Immunology**, v. 11, n. July, p. 1–11, 2020.

GHAFFARZADEGAN, T. et al. Effects of barley variety, dietary fiber and  $\beta$ -glucan content on bile acid composition in cecum of rats fed low- and high-fat diets. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 53, p. 104–110, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2017.10.008>>.

GILOR, C. et al. What's in a Name? Classification of Diabetes Mellitus in Veterinary Medicine and Why It Matters. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 30, n. 4, p. 927–940, 2016.

GILSON, S. D. et al. Pheochromocytoma in 50 Dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 8, n. 3, p. 228–232, 1994.

GIMENES, G. C. et al. Eficácia da suplementação oral com 1,3-1,6 betaglucano proveniente de *Saccharomyces cerevisiae* no controle da mastite bovina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 72, n. 4, p. 1441–1448, 2020.

GINSBERG, H. N. Lipoprotein physiology. **Endocrinology and Metabolism Clinics of North America**, v. 27, n. 3, p. 503–519, 1998.

GRAUBAUM, H.-J. et al. A Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Nutritional Study Using an Insoluble Yeast Beta-Glucan to Improve the Immune Defense System. **Food and Nutrition Sciences**, v. 03, n. 06, p. 738–746, 2012.

HABER, E. P. et al. Secreção da Insulina: Efeito Autócrino da Insulina e Modulação por Ácidos Graxos. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 45, n. 3, p. 219–227, 2001. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0004-27302001000300003&lng=en&nrm=iso&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-27302001000300003&lng=en&nrm=iso&tlng=en)>.

HAMDY, O.; BARAKATUN-NISAK, M.-Y. Nutrition in Diabetes. **Endocrinology and Metabolism Clinics of North America**, v. 45, n. 4, p. 799–817, dez. 2016.

HESS, R. S.; KASS, P. H.; VAN WINKLE, T. J. Association between diabetes mellitus, hypothyroidism or hyperadrenocorticism, and atherosclerosis in dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 17, n. 4, p. 489–494, 2003.

HESS, R. S.; KASS, P. H.; WARD, C. R. Breed distribution of dogs with diabetes mellitus admitted to a tertiary care facility. **Scientific Reports: Original Study JAVMA**, v. Vol 216, n. No. 9, p. 1414–1417, jan. 2000. Disponível em: <<http://journals.lww.com/00005344-198301000-00005>>.

HIRSCH, I. B. Glycemic variability and diabetes complications: Does it matter? Of course it does! **Diabetes Care**, v. 38, n. 8, p. 1610–1614, 2015.

HOENIG, M. **Carbohydrate metabolism and pathogenesis of diabetes mellitus in dogs and cats**. 1. ed. [s.l.] Elsevier Inc., 2014. v. 121

HOFER-INTEEWORN, N. et al. Effect of hypothyroidism on insulin sensitivity and glucose tolerance in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association (JAVMA)**, v. 73, n. 4, 2012. Disponível em: <<http://avmajournals.avma.org/doi/pdf/10.2460/ajvr.73.4.529>>.

IDF. **IDF DIABETES ATLAS 9th edition 2019**.

JALILI, T.; MEDEIROS, D. M.; WILDMAN, R. E. C. Dietary fiber and coronary heart disease. **Handbook of Nutraceuticals and Functional Foods, Second Edition**, p. 131–144, 2016.

JENSEN, A. L.; POULSEN, J. S. D. Preliminary Experience with the Diagnostic Value of the Canine Corticosteroid-Induced Alkaline Phosphatase Isoenzyme in Hypercorticism and Diabetes Mellitus. **Journal of Veterinary Medicine Series A**, v. 39, n. 1–10, p. 342–348, 1992.

JOHNSON, M. C. Hyperlipidemia disorders in dogs. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v. 27, n. 5, p. 361–370, 2005.

KANG, M. H. et al. Evaluation of four portable blood glucose meters in diabetic and non-diabetic dogs and cats. **Veterinary Quarterly**, v. 36, n. 1, p. 2–9, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/01652176.2015.1092617>>.

KAYA, K. et al. Beneficial effects of  $\beta$ -glucan against cisplatin side effects on the nervous system in rats. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 31, n. 3, p. 198–205, 2016.

KENNEDY, L. J. et al. Identification of susceptibility and protective major histocompatibility complex haplotypes in canine diabetes mellitus. **Tissue Antigens**, v. 68, n. 6, p. 467–476, 2006.

KIM, H. et al. Glucose and insulin responses to whole grain breakfasts varying in soluble fiber,  $\beta$ -glucan: A dose response study in obese women with increased risk for insulin resistance. **European Journal of Nutrition**, v. 48, n. 3, p. 170–175, 2009.

KIM, N. Y. et al. Evaluation of a human glycated hemoglobin test in canine diabetes mellitus. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 31, n. 3, p. 408–414, 2019.

KLEINERT, M. et al. Animal models of obesity and diabetes mellitus. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 14, n. 3, p. 140–162, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/nrendo.2017.161>>.

LAFLAMME, D. P. Development and Validation of a Body Condition Score System for Dogs. **Canine Practice**, v. 22, n. 4, p. 10–15, 1997.

LAGUNA NETO, D. et al. Analysis of fingerstick capillary glycemia versus alternative site - Results and patients preferences. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v. 53, n. 3, p. 344–347, 2009.

LIANG, J. et al. Enhanced clearance of a multiple antibiotic resistant *Staphylococcus aureus* in rats treated with PGG-glucan is associated with increased leukocyte counts and increased neutrophil oxidative burst activity. **International Journal of Immunopharmacology**, v. 20, n. 11, p. 595–614, 1998.

MAHLEY, R. W. et al. Plasma lipoproteins: apolipoprotein structure and function. **Journal of Lipid Research**, v. 25, 1984.

MAHLEY, R. W.; WEISGRABER, K. H.; INNERARITY, T. Canine Lipoproteins and Atherosclerosis. n. 2, p. 722–733, 1974.

MANTOVANI, M. S. et al.  $\beta$ -Glucans in promoting health: Prevention against mutation and cancer. **Mutation Research - Reviews in Mutation Research**, v. 658, n. 3, p. 154–161, 2008.

MATTIN, M. et al. An epidemiological study of diabetes mellitus in dogs attending first opinion practice in the UK. **Veterinary Record**, v. 174, n. 14, p. 349, 2014.

MCCRIMMON, R. J.; SHERWIN, R. S. Hypoglycemia in type 1 diabetes. **Diabetes**, v. 59, n. 10, p. 2333–2339, 2010.

MEJÍA, S. M. V.; DE FRANCISCO, A.; BOHRER, B. M. A comprehensive review on cereal  $\beta$ -glucan: extraction, characterization, causes of degradation, and food application. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 60, n. 21, p. 3693–3704, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1706444>>.

MENDES, C. B. S. et al. Suplementação de betaglucano a dietas de leitões de 21 a 60 dias de idade. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 3, p. 696–705, 2010.

MERY, M. Hipoglicemia como fator complicador no tratamento do diabetes melito tipo 1. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 52, n. 2, p. 288–298, 2008.

MICELI, D. D.; PIGNATARO, O. P.; CASTILLO, V. A. Concurrent hyperadrenocorticism and diabetes mellitus in dogs. **Research in Veterinary Science**, v. 115, n. July, p. 425–431, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.rvsc.2017.07.026>>.

MIN, S. S. et al. Structural and biological characterization of aminated-derivatized oat  $\beta$ -glucan. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 14, p. 5554–5558, 2005.

MIRONCZUK-CHODAKOWSKA, I.; KUJAWOWICZ, K.; WITKOWSKA, A. M. Beta-Glucans from Fungi : Biological and Health-Promoting. **Nutrients**, v. 13, n. 11, p. 3960, 2021.

MORI, A. et al. Comparison of glucose fluctuations between day- and night-time measured using a continuous glucose monitoring system in diabetic dogs. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 75, n. 1, p. 113–117, 2013.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC) (ed.). **Nutrients Requirements of Dogs and Cats**. Washington (DC): National Academy Press, 2006.

NEUMANN, S. Reference Interval of Hemoglobin A1c and Influence of Hematological Parameters on Its Serum Concentration in Dogs. **Veterinary Medicine International**, v. 2020, 2020.

NICOLOSI, R. et al. Plasma lipid changes after supplementation with  $\beta$ -glucan fiber from yeast. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 70, n. 2, p. 208–212, 1999.

O'KELL, A. L. et al. **Exploration of autoantibody responses in canine diabetes using protein arrays** **Scientific Reports**, 2022.

OKI, J. C. Dyslipidemias in Patients With Diabetes Mellitus: Classification and Risks and Benefits of Therapy. **Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy**, v. 15, n. 3, p. 317–337, 1995.

PAIVA, C. Dra. Márcia Cristina Paiva O papel fisiológico da insulina e dos hormônios contrarregulatórios na homeostase glicêmica Physiological role of insulin and counterregulatory hormones on glycemc homeostasis. Resumo. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica Funcional**, n. 61, 2014. Disponível em: <<https://www.vponline.com.br/portal/noticia/pdf/625a3c9793434f4226ef9eb5508f2c51.pdf>>

PARK, S. H. et al. Comparison of antibiotic supplementation versus a yeast-based prebiotic on the cecal microbiome of commercial broilers. **PLoS ONE**, v. 12, n. 8, 2017.

PITKIN, A. D.; RICE, M. J. Challenges to glycemic measurement in the perioperative and critically ill patient: A review. **Journal of Diabetes Science and Technology**, v. 3, n. 6, p. 1270–1281, 2009.

PÖPPL, A. G. et al. Canine diabetes mellitus risk factors: A matched case-control study. **Research in Veterinary Science**, v. 114, n. August, p. 469–473, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.rvsc.2017.08.003>>.

PÖPPL, Á. G.; GONZÁLEZ2, F. H. D. Aspectos epidemiológicos e clínico-laboratoriais da Diabetes Mellitus em cães. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33, n. October 2004, p. 33–40, 2005.

PÖPPL, G. et al. Pyometra-associated insulin resistance assessment by insulin binding assay and tyrosine kinase activity evaluation in canine muscle tissue. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 76, 2021.

RISOLIA, L. W. **Parâmetros metabólicos , inflamatórios e de saciedade de gatos obesos alimentados com dieta com adição de beta-glucanos**. Universidade de São Paulo, 2021.

RONEN, J. A. et al. Glycemic Disturbances in Pheochromocytoma and Paraganglioma. **Cureus**, v. 11, n. 4, p. 4–9, 2019.

ROP, O.; MLCEK, J.; JURIKOVA, T. Beta-glucans in higher fungi and their health effects. **Nutrition Reviews**, v. 67, n. 11, p. 624–631, 2009.

SAKO, T. et al. Diagnostic significance of serum glycated albumin in diabetic dogs Toshinori Sako, Akihiro Mori, 1 Peter Lee, Tomoya Takahashi, Takehito Izawa, Sino Karasawa, Miho Furuuchi, Daigo Azakami, Mina Mizukoshi, Hisashi Mizutani, Yoshio Kiyosawa, Toshiro Arai. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 638, p. 634–638, 2008.

SANTOS, M. A. B. D. S. M. A. B. DOS. **Avaliação de três glicosímetros portáteis para mensuração de glicemia em cães**. [s.l: s.n.].



SELMAN, P. J. et al. Progesterin-induced growth hormone excess in the dog originates in the mammary gland. **Endocrinology**, v. 134, n. 1, p. 287–292, 1994.

SHITULENI, S. A. et al. Effects of yeast polysaccharide on biochemical indices, antioxidant status, histopathological lesions and genetic expressions related with lipid metabolism in mice fed with high fat diet. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, v. 8, n. 2, p. 51–57, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bcdf.2016.10.001>>.

SIEBER-RUCKSTUHL, N. S. et al. Changes in the Canine Plasma Lipidome after Short- and Long-Term Excess Glucocorticoid Exposure. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–14, 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/s41598-019-42190-1>>.

SILVA, A. J. et al. Estudo do comportamento cortisol, gh e insulina após uma sessão de exercício resistido agudo. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, v. 20, n. 1, p. 21–25, 2014. o comportamento cortisol, gh e insulina após uma sessão de ex. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 20, n. 1, p. 21–25, 2014.

SOLIMAN, G. A. Dietary Fiber, Atherosclerosis, and Cardiovascular Disease. **Nutrients**, v. 11, n. 2, 2019.

TEIXEIRA, F. A. **Efeitos do emprego de amido resistente decorrente do processo de extrusão no controle glicêmico de cães diabéticos**. 2016. Universidade de São Paulo, 2016.

TEIXEIRA, F. A. et al. Effects of pea with barley and less-processed maize on glycaemic control in diabetic dogs. **British Journal of Nutrition**, v. 120, n. 7, p. 777–786, 2018.

TEIXEIRA, F. A. et al. Starch sources influence lipidaemia of diabetic dogs. **BMC Veterinary Research**, v. 16, n. 1, p. 1–9, 2020.

TESHIMA, E. **Efeito da fonte de amido e do manejo alimentar no controle da glicemia em cães com diabetes mellitus naturalmente adquirida**. 2010. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Universidade Estadual Paulista, 2010.

TESHIMA, E. et al. Influence of type of starch and feeding management on glycaemic control in diabetic dogs. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, n. March, p. 1–11, 2021.

VERKEST, K. R. et al. Evaluation of beta-cell sensitivity to glucose and first-phase insulin secretion in obese dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 72, n. 3, p. 357–366, 2011.

VETVICKA, V.; VETVICKOVA, J. PHYSIOLOGICAL EFFECTS OF DIFFERENT TYPES OF  $\beta$ -GLUCAN 225. **Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.**, v. 151, n. 2, p. 225–231., 2007.

WANDERS, A. J. et al. Effects of dietary fibre on subjective appetite, energy intake and body weight: A systematic review of randomized controlled trials. **Obesity Reviews**, v. 12, n. 9, p. 724–739, 2011.

WATSON, T. D. G.; BARRIE, J. Lipoprotein metabolism and hyperlipidaemia in the dog and cat: A review. **Journal of Small Animal Practice**, v. 34, p. 479–487, 1993.

WESS, G.; REUSCH, C. Capillary blood sampling from the ear of dogs and cats and use of portable meters to measure glucose concentration. **Journal of Small Animal Practice**, v. 41, n. 2, p. 60–66, 2000a.

WESS, G.; REUSCH, C. Evaluation of five portable blood glucose meters for use in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 216, n. 2, p. 203–209, 2000b.

WIDDOWSON, W. M. et al. The physiology of growth hormone and sport. **Growth Hormone and IGF Research**, v. 19, n. 4, p. 308–319, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ghir.2009.04.023>>.

WIEDMEYER, C. E. et al. Evaluation of a continuous glucose monitoring system for use in veterinary medicine. **Diabetes Technology and Therapeutics**, v. 7, n. 6, p. 885–895, 2005.

XENOULIS, P. G. et al. Serum Triglyceride Concentrations in Miniature Schnauzers with and without a History of Probable Pancreatitis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 25, n. 1, p. 20–25, 2011a.

XENOULIS, P. G. et al. Association of hypertriglyceridemia with insulin resistance in healthy Miniature Schnauzers. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 238, n. 8, p. 1011–1016, 2011b.

XENOULIS, P. G. et al. Serum triglyceride and cholesterol concentrations and lipoprotein profiles in dogs with naturally occurring pancreatitis and healthy control dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 34, n. 2, p. 644–652, 2020.

XENOULIS, P. G.; STEINER, J. M. Lipid metabolism and hyperlipidemia in dogs. **Veterinary Journal**, v. 183, n. 1, p. 12–21, 2010.

XENOULIS, P. G.; STEINER, J. M. Canine hyperlipidaemia. **Journal of Small Animal Practice**, v. 56, n. 10, p. 595–605, 2015a.

XENOULIS, P. G.; STEINER, J. M. Canine hyperlipidaemia. **The Journal of small animal practice**, v. 56, n. 10, p. 595–605, out. 2015b.

XU, H.; ZOU, S.; XU, X. The  $\beta$ -glucan from *Lentinus edodes* suppresses cell proliferation and promotes apoptosis in estrogen receptor positive breast cancers. **Oncotarget**, v. 8, n. 49, p. 86693–86709, 2017.

ZHEN, W. et al. Yeast  $\beta$ -Glucan Altered Intestinal Microbiome and Metabolome in Older Hens. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, n. December, 2021.

ZHU, F.; DU, B.; XU, B. A critical review on production and industrial applications of beta-glucans. **Food Hydrocolloids**, v. 52, p. 275–288, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.07.003>>.