

LAYNE CAROLINA PEREIRA

**Efeito do manejo alimentar com dieta seca ou mix-feeding sob
parâmetros bioquímicos, metabólicos e inflamatórios de cães
obesos submetidos a perda de peso**

São Paulo

2022

LAYNE CAROLINA PEREIRA

**Efeito do manejo alimentar com dieta seca ou mix-feeding sob
parâmetros bioquímicos, metabólicos e inflamatórios de cães
obesos submetidos a perda de peso**

VERSÃO CORRIGIDA

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

Departamento:

Clínica médica

Área de concentração:

Clínica veterinária

Orientador:

Prof. Dra. Márcia de Oliveira Sampaio
Gomes

Coorientador:

Prof. Dr. Ricardo Souza Vasconcellos

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)

T. 4206 FMVZ	Pereira, Layne Carolina Efeito do manejo alimentar com dieta seca ou <i>mix-feeding</i> sob parâmetros bioquímicos, metabólicos e inflamatórios de cães obesos submetidos a perda de peso / Layne Carolina Pereira. – 2022. 73 f. : il. Dissertação (Mestrado) – 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. Orientadora: Profa. Dra. Márcia de Oliveira Sampaio Gomes. Coorientador: Prof. Dr. Ricardo Souza Vasconcellos. 1. Obesidade. 2. Manejo alimentar. 3. Metabolismo. 4. Saciedade. 5. Emagrecimento. I. Título.
-----------------	--

Ficha catalográfica elaborada pela bibliotecária Camila Molgara Gamba, CRB-8 7070, da FMVZ/USP.



Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Universidade de São Paulo

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Efeito do tipo de alimento, seco ou úmido, sob a composição corporal e parâmetros bioquímicos, metabólicos e inflamatórios de cães obesos submetidos a perda de peso", protocolada sob o CEUA nº 5028010719 (ID 006729), sob a responsabilidade de **Márcia de Oliveira Sampaio Gomes e equipe; Layne Carolina Pereira; Verônica dos Santos Vanzo** - 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 02/07/2019.

We certify that the proposal "Effect of the type of food, dry or wet, under the body composition and biochemical, metabolic and inflammatory parameters of obese dogs submitted to weight loss", utilizing 36 Dogs (males and females), protocol number CEUA 5028010719 (ID 006729), under the responsibility of **Márcia de Oliveira Sampaio Gomes and team; Layne Carolina Pereira; Verônica dos Santos Vanzo** - 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 07/02/2019.

Finalidade da Proposta: [Pesquisa](#)

Vigência da Proposta: de [10/2019](#) a [08/2021](#) Área: [Clínica Médica Veterinária](#)

Origem: [Animais de proprietários](#)

Espécie: [Cães](#)

sexo: [Machos e Fêmeas](#)

idade: [1 a 14 anos](#)

N: [36](#)

Linhagem: [variável](#)

Peso: [6 a 60 kg](#)

Local do experimento: Os animais serão avaliados nas dependências do HOVET da FMVZ / USP.

São Paulo, 23 de agosto de 2021

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



Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Universidade de São Paulo

São Paulo, 30 de maio de 2022

CEUA N 5028010719

(ID 009217)

Ilmo(a). Sr(a).

Responsável: Márcia De Oliveira Sampaio Gomes

Área: Clínica Médica Veterinária

Título da proposta: "Efeito do manejo alimentar com dieta seca ou mix-feeding sob parâmetros bioquímicos, metabólicos e inflamatórios de cães obesos submetidos a perda de peso".

CERTIFICADO (Alteração do cadastro versão de 06/maio/2022)

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, no cumprimento das suas atribuições, analisou e **APROVOU** a Alteração do cadastro (versão de 06/maio/2022) da proposta acima referenciada.

Resumo apresentado pelo pesquisador: "Prezados, Solicitamos alteração do título para melhor ajuste ao estudo conduzido. Favor considerar as justificativas apresentadas na emendas submetidas nesta mesma data. Incluo novamente o projeto com alterações. Agradeço a atenção. Marcia Gomes".

Comentário da CEUA: *Título alterado atendendo solicitação da responsável*

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: PEREIRA, Layne Carolina

Título: **Efeito do manejo alimentar com dieta seca ou mix-feeding sob parâmetros bioquímicos, metabólicos e inflamatórios de cães obesos submetidos a perda de peso**

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

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

*Dedico aos meus pais, Valdete Leme Pereira e José Valdeir Pereira,
que sempre fizeram de tudo para que eu pudesse ter todas as oportunidades
que eles não tiveram.*

AGRADECIMENTOS

À Deus, primeiramente, por me conceder mais uma oportunidade de crescimento profissional e pessoal.

Aos meus pais, que sempre me incentivaram a estudar e me apoiaram para que tudo isso fosse possível.

Ao meu noivo Julio César, por todo apoio, carinho e compreensão nesses anos de mestrado.

Ao meu filho de quatro patas Tinki Wink, ser de luz que sempre me lembra o porquê estou nesse caminho.

À minha orientadora Prof^a. Dr^a. Márcia de Oliveira Sampaio Gomes, que me direcionou, incentivou e também me acalmou nos momentos de angústia durante todo o projeto.

À minha parceira de execução de projeto, Verônica Vanzo, que me ajudou do início ao fim, sem ela não seria possível a realização desse estudo.

Ao meu coorientador Ricardo Vasconcellos, por ter me colocado nesse caminho e sempre ter se mostrado disposto a ajudar.

Aos colegas de pós-graduação e à equipe do laboratório, em especial a Clara que sempre foi tão solícita e disposta a esclarecer as dúvidas.

À empresa de alimentos para cães e gatos, Adimax, pelo apoio financeiro do projeto
Ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Veterinária, PCVet, por me receber tão bem desde o início.

Aos tutores dos cães, que gentilmente concordaram em incluir seus animais no estudo, seguindo sempre nossas recomendações.

Aos cães ex-gordinhos que participaram do estudo, Mallu, Duffy, Mel, Sofia, Chicão, Jhujhu, Will, Lola, Chê, Rafa, Princesa, Sophia, Vitória, Lara, Tails, Kyra, Pacuca, Harley e Jack.

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

Muito obrigada a todos!

“A ciência nunca resolve um problema sem criar pelo menos outros dez”

George Bernard Shaw

RESUMO

PEREIRA, L. C. **Efeito do manejo alimentar com dieta seca ou mix-feeding sob parâmetros bioquímicos, metabólicos e inflamatórios de cães obesos submetidos a perda de peso.** 2022. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022.

A obesidade é considerada uma doença crônica que está associada a alterações metabólicas e hormonais. Estudos destacam o importante e ativo papel do tecido adiposo em produzir hormônios e citocinas que contribuem para um quadro inflamatório crônico em baixo grau. Neste contexto, objetivou-se avaliar o efeito do processo de perda de peso com alimento hipocalórico seco ou hipocalórico seco com substituição de 20% por alimento hipocalórico úmido sobre os parâmetros bioquímicos, hormonais e inflamatórios de cães obesos. Os animais foram obtidos da rotina de atendimentos do HOVET da FMVZ/USP, tendo como critérios de seleção cães, machos ou fêmeas, com escore de condição corporal (ECC) 8 ou 9 em escala de 9 pontos. Foram incluídos no estudo 19 cães obesos, sem comorbidades. O estudo foi conduzido em ensaio clínico prospectivo randomizado sendo os cães divididos em dois grupos. O grupo denominado RS, recebeu alimento hipocalórico seco e foi composto por oito animais e o grupo chamado MF recebeu parte de necessidade energética para perda de peso (NEPP) na forma de alimento hipocalórico seco (80%) e o restante foi substituído por alimento hipocalórico úmido, sendo composto por 11 animais. Os animais receberam a quantidade de alimento de forma controlada e determinada a partir da equação da NEPP e foram avaliados mensalmente para acompanhamento clínico e nutricional, onde eram realizados ajustes para manutenção da perda de peso, sendo esse processo mantido até que os animais atingissem o ECC ideal (5/9) ou perdessem, no mínimo, 20% do peso inicial. No momento da inclusão no estudo e após atingirem o objetivo final foram realizadas coletas para avaliação do perfil bioquímico (proteína total, albumina, alanina aminotransferase, fosfatase alcalina, ureia, creatinina, triglicérides, colesterol, glicose e frutossamina), perfil inflamatório (proteína C reativa e citocinas séricas IL-1 β , IL-6, IL-10 e TNF- α) e do hormônio colecistoquinina. As variáveis de perda de peso também foram avaliadas (tempo de acompanhamento, taxa de perda de peso semanal (TPPS), peso, ECC e ingestão calórica). Os dados foram analisados quanto à normalidade,

Mann Whitney foi usado para análise dos que não atenderam distribuição normal e o teste t de Student foi usado para análises que atenderam a normalidade, adicionalmente foi utilizada a Análise de Variância com medidas repetidas. O nível de significância utilizado para os testes foi de 5%. A porcentagem de perda de peso do grupo RS foi de $21,57 \pm 3,23\%$ e do grupo MF foi de $18,55 \pm 5,60\%$ ($p=0,191$), demonstrando eficiência no protocolo *mix-feeding* de restrição calórica adotado. Foi observada redução no tempo de acompanhamento em meses do protocolo de perda de peso no grupo MF ($p=0,020$), já na taxa de perda de peso semanal não houve diferença entre os grupos ($p=0,302$). Para as variáveis do perfil bioquímico não foram observadas diferenças entre os grupos ($p>0,05$), porém a concentração sérica de IL-6 foi menor no grupo MF quando comparado ao RS após a perda de peso ($p=0,01$). No presente estudo, a substituição de 20% de alimento hipocalórico seco por alimento hipocalórico úmido mostrou-se eficaz em reduzir a duração do programa de perda de peso em cães.

Palavras-chave: Obesidade. Manejo alimentar. Metabolismo. Saciedade. Emagrecimento.

ABSTRACT

PEREIRA, L.C. **Effect of food management with dry diet or mix feeding, on biochemical, metabolic and inflammatory parameters of obese dogs submitted to weight loss.** 2022. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022.

Obesity is considered a chronic disease that is associated with metabolic and hormonal changes. Studies highlight the important and active role of adipose tissue in producing hormones and cytokines that contribute to a low-grade chronic inflammatory condition. The aim of this study was to evaluate the effect of feeding obese dogs hypocaloric dry or hypocaloric dry food replaced hypocaloric wet food at 20% on weight loss and biochemical, hormonal and inflammatory factors. 19 dogs were obtained from the HOVET routine at FMVZ/USP, under the following criteria: male or female with no comorbidities, with a body condition score (BCS) of 8 or 9 out of 9-point scale. Dogs were assigned in a prospective randomized clinical trial with dogs divided in two groups: RS, 8 dogs receiving hypocaloric dry food and MF, 11 dogs that have replaced 20% of energy requirement for wet food. Dogs fed controlled for weight loss based on ERWL equation, evaluated monthly for clinical and nutritional follow-up, with adjustments made to maintain weight loss, and this process was maintained until the dogs reached the BCS ideal (5/9) or lost at least 20% of their initial weight. At the time of inclusion in the study and after reaching the final objective, collections were performed to evaluate the biochemical profile (total protein, albumin, alanine aminotransferase, alkaline phosphatase, urea, creatinine, triglycerides, cholesterol, glucose and fructosamine), inflammatory profile (protein C reactive and serum cytokines IL-1 β , IL-6, IL-10 and TNF- α) and the hormone cholecystikinin. Weight loss variables were also evaluated (follow-up time, weekly weight loss rate (WWLR), weight, BCS, and caloric intake). Data were analyzed for normality, Mann Whitney was used for analysis of those that did not meet normal distribution and Student's t test was used for parameters that met normality, additionally, Analysis of Variance with repeated measures was used. The significance level used for the tests was 5%. The percentage of weight loss in the RS group was $21.57 \pm 3.23\%$ and in the MF group it was $18.55 \pm 5.60\%$ ($p=0.191$), demonstrating efficiency in the adopted calorie restriction mix-feeding protocol. A reduction in the follow-up time in months of the weight loss protocol was observed in the MF group ($p=0.020$), while in the weekly weight loss rate there was no difference between the groups ($p=0.302$). For the

biochemical profile variables, no differences were found between the groups ($p>0.05$), but the serum concentration of IL-6 was lower in the MF group when compared to the RS after weight loss ($p=0.01$). In conclusion, replacing 20% of dry hypocaloric food with moist hypocaloric food has shown to be effective in reducing the duration of the weight loss program in dogs.

Keywords: Obesity. Food management. Metabolism. Satiety. Weight loss.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição química analisada na matéria seca, energia metabolizável e ingredientes do alimento hipocalórico seco.....	39
Tabela 2 - Composição química analisada na matéria seca, energia metabolizável e ingredientes do alimento hipocalórico úmido.....	39
Tabela 3 - Dados descritivos dos animais que compuseram o Grupo RS.....	45
Tabela 4 - Dados descritivos dos animais que compuseram o Grupo MF.....	45
Tabela 5 - Média e desvio padrão das variáveis idade, sexo e raça dos grupos em estudo	46
Tabela 6 - Média e desvio padrão das variáveis de perda de peso analisadas dos grupos em estudo.....	47
Tabela 7 - Média e desvio padrão das variáveis do perfil bioquímico analisadas dos grupos em estudo.....	49
Tabela 8 - Média e desvio padrão das variáveis do perfil inflamatório analisadas dos grupos em estudo.....	51
Tabela 9 - Média e desvio padrão da variável colecistoquinina analisada nos grupos em estudo	52

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Tempo de acompanhamento, em meses, do protocolo de perda de peso dos grupos de cães submetidos a perda de peso no estudo.....46

LISTA DE ABREVIATURAS

ALT	Alanina aminotransferase
AgRP	Peptídeo relacionado com a cepa <i>agouti</i>
CART	Fator de transcrição cocaína-anfetamina-dependente
CCK	Colecistoquinina
DEXA	<i>Dual energy X-ray absorptiometry</i>
DPP IV	Dipeptidil peptidase IV
ECC	Escore de condição corporal
FA	Fosfatase alcalina
FMVZ	Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
GLP-1	Peptídeo semelhante a glucagon 1
GLUT-4	Transportador de glicose 4
HOVET	Hospital veterinário
IL1- β	Interleucina-1 beta
IL-6	Interleucina-6
IL-10	Interleucina-10
IMC	Índice de massa corporal
NEPP	Necessidade energética para perda de peso
NPY	Neuropeptídeo Y
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	Proteína C reativa
PM	Peso meta
POMC	Pró-opiomelanocortina
PYY	Peptídeo YY
RS	Grupo ração hipocalórica seca
MF	Grupo ração hipocalórica seca e úmida (<i>mix feeding</i>)
SNC	Sistema nervoso central
TAB	Tecido adiposo branco
TAM	Tecido adiposo marrom
TAS	Tecido adiposo subcutâneo
TAV	Tecido adiposo visceral
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa
USP	Universidade de São Paulo

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1	OBESIDADE	19
2.2	FATORES DE RISCO	19
2.3	CONTROLE NEUROENDÓCRINO DO APETITE E SACIEDADE	21
2.4	TECIDO ADIPOSE.....	25
2.5	DIAGNÓSTICO DA OBESIDADE.....	30
2.6	TRATAMENTO.....	31
3	HIPÓTESE	35
4	OBJETIVO.	36
5	MATERIAL E MÉTODOS	37
5.1	ANIMAIS.....	37
5.2	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	38
5.3	ALIMENTOS EXPERIMENTAIS.....	38
5.4	PROTOCOLO EXPERIMENTAL.....	40
5.5	PARÂMETROS AVALIADOS.....	41
5.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	44
6	RESULTADOS	45
7	DISCUSSÃO	52
8	LIMITAÇÕES DO ESTUDO	62
9	CONCLUSÃO	63
10	REFERÊNCIAS	64

1 INTRODUÇÃO

A obesidade é o distúrbio nutricional mais comum em cães e gatos (FREEMAN et al., 2006; GERMAN et al., 2010a), sendo caracterizada pelo acúmulo excessivo de tecido adiposo suficiente para comprometer a saúde ou função corporal (LAFLAMME, 2006).

É considerada uma doença de caráter multifatorial pois existem fatores genéticos, ambientais, comportamentais e socioculturais envolvidos, entretanto, é causada por desequilíbrio crônico entre a ingestão e o gasto energético, ou seja, resulta de balanço energético positivo (ZORAN et al., 2010; GERMAN, 2006).

O manejo inadequado por parte dos tutores influencia diretamente na ocorrência de obesidade, pois contribuem para o desequilíbrio energético devido à maior oferta de petiscos e outros alimentos e por negligenciar a atividade física (BLAND et al., 2010). Tais atitudes são comumente observadas na prática clínica, tornando-se um importante obstáculo nos programas de emagrecimento.

No passado, o tecido adiposo era considerado um depósito passivo de energia e pensava-se que seu papel principal nas doenças era o efeito do aumento da sobrecarga em articulações e órgãos. Mais recentemente pesquisas reportam que existe outro mecanismo para a ligação entre a obesidade e doenças (GERMAN et al., 2010a; LAFLAMME, 2012), sendo evidenciado que o tecido adiposo é um órgão endócrino ativo, que se comunica com o sistema nervoso central e secreta diversos hormônios, citocinas e outras substâncias de sinalização celular, chamadas de adipocinas, que podem contribuir para o surgimento de doenças relacionadas à obesidade (TRAYHURN, 2005).

O diagnóstico preciso da condição corporal pode ser feito de algumas maneiras, como pelo método da diluição de isótopos de deutério (FERRIER et al., 2002), ou densitometria por dupla emissão de raios-X (DEXA) (MAWBY et al., 2004). Tais métodos determinam a porcentagem de tecido adiposo e massa magra presentes no corpo, porém, ambos são inviáveis na rotina clínica devido ao alto custo e/ou necessidade de sedação do paciente. Por esse motivo, o método mais utilizado é a avaliação do escore de condição corporal (ECC) em escala validada por LaFlamme (1997), que consiste na avaliação por inspeção direta e palpação da gordura na região das costelas, abdômen, pescoço, cauda e em regiões de proeminências ósseas, que são locais onde ocorre acúmulo de gordura. A escala possui uma classificação de 1 a

9, no qual os valores 4 e 5 são atribuídos ao cão em condição corporal ideal, 6 e 7 ao animal com sobrepeso e, 8 e 9 ao obeso (LAFLAMME, 1997).

Atualmente, o controle de peso, incluindo prevenção e tratamento da obesidade, continua sendo um desafio tanto para profissionais como para os tutores e estratégias que possam auxiliar no processo de perda de peso, como por exemplo, o *mix feeding*, termo utilizado para denominar a combinação de dieta seca com dieta úmida, estão sendo estudadas. Portanto, o presente estudo tem como objetivo avaliar o efeito do manejo alimentar com dieta seca ou *mix feeding*, em parâmetros bioquímicos, hormonais e inflamatórios de cães obesos submetidos ao emagrecimento.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 OBESIDADE

A obesidade em humanos tem aumentado expressivamente em todo o mundo e segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), a doença é considerada uma pandemia. A OMS relata que a obesidade quase triplicou em todo o mundo desde 1975, além disso, em 2016 mais de 1,9 bilhão de adultos, com 18 anos ou mais, estavam acima do peso e destes, mais de 650 mil eram obesos (OMS, 2017). Em cães e gatos, também foi observado aumento da prevalência de obesidade e pesquisas têm mostrado números que variam de 30% a 50% (MCGREEVY et al., 2005; GERMAN, 2006; ZORAN, 2010; ALONSO et al., 2017; PORSANI et al., 2020).

A obesidade se define como um acúmulo excessivo de gordura nas zonas de depósito de tecido adiposo ocasionada por uma desproporção entre o consumo e o gasto energético. Inicialmente, o excesso de calorías é acumulado em forma de gordura, que produz aumento de peso e mudanças na composição corporal (CASE; CAREY; HIRAKAWA, 1998). Esse desequilíbrio se relaciona com muitas causas como estilo de vida, alimentação, atividade física, distúrbios neuroendócrinos e fatores hereditários (MARQUES et al., 2004).

A condição genética também possui um importante papel no desenvolvimento da obesidade, sendo descrita interação entre hormônios e neuropeptídios atuando na rede de vias hipotalâmicas que estão associadas à ingestão alimentar e gasto energético. Desse modo, tais modificações em genes que codificam a expressão de substâncias como leptina, peptídeo YY (PYY), grelina entre outras, e de genes que expressam seus respectivos receptores provocam o surgimento da obesidade (SCHWARTZ; SEELEY, 1997; RODRIGUES; SUPPLY; RADOMINSKI, 2003).

2.2 FATORES DE RISCO

Existem fatores que tornam um animal mais propenso a desenvolver obesidade, como sexo, raça, ambiente, idade, status reprodutivo, dieta e atividade física. Courcier e colaboradores (2010) verificaram mais frequentemente a presença da obesidade em caninos com idade média mais alta e fêmeas castradas. Acredita-

se que a gonadectomia se relacione com diminuição da taxa de metabolismo basal, provocando alteração dos hábitos alimentares, elevando o consumo de energia e reduzindo o nível de atividade física, ampliando assim o risco do desenvolvimento da obesidade (COURCIER et al., 2010).

Cães e gatos jovens, devido aos processos anabólicos da fase de crescimento, inclinam-se a apresentar gasto energético maior. Já cães senis, por apresentarem menor gasto metabólico, possuem maior facilidade de acúmulo de tecido adiposo. No entanto, perdem massa magra devido ao processo sarcopênico decorrente do envelhecimento (JERICÓ; SCHEFFER, 2002). Considera-se um fator de risco para o desenvolvimento da obesidade na fase adulta o ganho de peso na fase de crescimento (ZORAN, 2010).

Algumas raças como Cocker Spaniel, Labrador Retriever, Golden Retriever, Beagle e Shetland Sheepdog, apresentam incidência de obesidade superior ao da população geral de cães (JERICÓ; SCHEFFER, 2002; CASE; CAREY; HIRAKAWA, 1998). A presença do gene da pró-opiomelanocortina (POMC) é um fator genético que está associado ao aumento do apetite e incidência da obesidade em cães da raça Labrador Retriever (RAFFAN et al., 2016).

A dieta, como já mencionado anteriormente, também está relacionada com a gênese da obesidade. Fatores como a quantidade de alimento, alta densidade energética do alimento, número de refeições, fornecimento de petiscos e sobras da mesa apresentam relação com a ocorrência da obesidade (GERMAN, 2006). A alimentação *ad libitum*, aquela fornecida à vontade e sem controle de quantidade, é a forma mais simples de manejo alimentar, porém é considerada uma prática que favorece maior consumo calórico (KEALY et al., 2002) para cães e gatos. Estudo conduzido por Kealy e colaboradores (2002), que comparou dois grupos de cães da raça Labrador Retriever, um recebendo alimento *ad libitum* e o outro recebendo o mesmo alimento, porém, em quantidades 25% menores, concluiu que o controle energético resultou em menor incidência de sobrepeso e obesidade e, além disso, promoveu sobrevivência de dois anos, além de maior qualidade de vida para o grupo com restrição energética.

Os tutores também contribuem significativamente para o aumento de peso de seus animais por meio de erros no ajuste das necessidades alimentares. É frequente a dificuldade de reconhecer a obesidade de seu animal, oferta descontrolada de petiscos, estímulo ao comportamento de súplica por alimentos e falta de prática de

exercícios físicos, que são exemplos da influência do tutor no ganho de peso do animal (MCGREEVY et al., 2005; COURCIER et al., 2010). Estudo feito por White e colaboradores (2011) demonstrou que entre tutores de cães definidos como “acima do peso” por veterinários, 39% deles acreditavam que o seu animal estava no peso ideal.

2.3 CONTROLE NEUROENDÓCRINO DO APETITE E SACIEDADE

Acreditava-se que a ingestão de alimentos seria controlada apenas pela teoria da regulação glicostática, em que a glicemia reduziria decorrente do período de jejum ou não alimentação e assim estimularia o centro da fome no hipotálamo. Em oposição, pensava-se que o aumento pós-prandial da glicose ativava o centro da saciedade e que este seria o estímulo para inibição da fome (GANONG, 1995¹ *apud* CHANDLER, 2018).

Atualmente é reconhecido que os mecanismos fisiológicos que regulam o consumo alimentar e o gasto de energia dependem de fatores neuroendócrinos complexos, que atuam através de vias ou sinalizações aferentes (ou periféricas), que são normalmente compostas por estimulação neuronal vagal, nutrientes (aminoácidos, glicose, lipídeos), hormônios produzidos e liberados pelo trato gastrointestinal (colecistocinina e grelina, por exemplo) e/ou tecido adiposo (adipocinas), enviando informações das vias periféricas ao sistema nervoso central (SNC), e sinais eferentes (ou centrais), transmitindo respostas do SNC às vias periféricas (MACHADO; JERICÓ, 2015). Esses sinais começam a atuar antes do início ou fim de uma refeição, quando de origem neuronal ou gastrointestinal, que resulta em produção energética e formação de tecido adiposo, com conseqüente produção de adipocinas sinalizadoras. Nervos periféricos especializados, através de seus neuropeptídeos mensageiros, enviam essas informações aos centros cerebrais onde neuropeptídeos de segunda ordem processam as informações e as conduzem ao hipotálamo (núcleo arqueado), podendo ativar ou inibir ingestão alimentar ou o gasto energético (WYNNE et al., 2005).

Assim sendo, é indispensável o papel que o núcleo arqueado desempenha na regulação do apetite, em conjunto com a barreira hematoencefálica, que possui a

¹ Ganong WF. Central regulation of visceral function. *In*: Ganong WF. Review of Medical Physiology. 17th edition. East Norwalk (CT): Apple and Lange; p. 210–232 1995

função de regular a passagem de sinais ou vias de sinalização para o hipotálamo. Para que ocorra a regulação da homeostase do balanço energético e o status nutricional, há duas populações neuronais integradas com o núcleo arqueado, POMC e fator de transcrição cocaína-anfetamina-dependente (CART), responsáveis por desencadear efeitos anorexígenos, inibindo o apetite, e a outra população de neuropeptídeos, como o neuropeptídeo Y (NPY) e o peptídeo relacionado com a cepa *agouti* (AgRP), com efeitos orexígenos, que estimulam o apetite (MORTON et al., 2006).

2.3.1 Regulação da homeostase energética

A regulação da homeostase energética é controlada pelo SNC e existem diversas regiões cerebrais que recebem sinais periféricos, de longo ou curto prazo, podendo ser do tecido adiposo, do trato gastrointestinal, ou a partir dos níveis de nutrientes circulantes. Trata-se de um complexo circuito, que agindo de forma integrada, interfere nas sensações de fome, saciedade, esvaziamento e plenitude gástrica (SCHWARTZ et al., 2000).

2.3.1.1 Sinais de longo prazo

Sinais de longo prazo, ou, sinais de adiposidade, são aqueles que informam o nível de estoque de energia. Representados pela leptina e insulina (SCHWARTZ et al., 2000)

2.3.1.1.1 Leptina

A leptina é a principal sinalizadora de longo prazo conhecida, tem ação nos receptores expressos no hipotálamo, promovendo sensação de saciedade e regulando o balanço energético. Ela informa ao cérebro sobre o estoque de energia, desencadeando assim, uma resposta neuronal para a regulação da ingestão alimentar (KIM; MOUSSA, 2000) e aumenta a expressão de neurônios anorexígenos POMC/CART, que reduzem a fome e, conseqüentemente, antagoniza os neurônios orexigênicos NPY/AgRP, que aumentam a fome (MORTON et al., 2006; SCHWARTZ et al., 2000).

2.3.1.1.2 Insulina

A concentração sérica da insulina assim como da leptina, é proporcional à adiposidade. A insulina possui efeito anabólico, elevando a captação de glicose pela célula e a redução da glicemia é um estímulo para o aumento do apetite (WOODS et al., 1998). Em contrapartida, alguns estudos demonstraram que a insulina possui função essencial no SNC para estimular a saciedade, elevar o gasto energético e regular a ação da leptina (SCHWARTZ et al., 2000).

Quando ocorre redução na gordura corporal, o núcleo arqueado do hipotálamo interpreta como uma diminuição dos níveis de insulina e leptina, levando a supressão dos sinais anorexígenos e gerando estímulo dos sinais orexígenos, o que resulta no aumento da ingestão alimentar, redução do gasto energético e depósito de tecido adiposo. Contrariamente, nos momentos de ingestão alimentar há aumento da sensibilidade da leptina e insulina, gerando sensação de saciedade. Grande parte dos indivíduos obesos não apresentam redução de leptina ou insulina, mas sem resistência à ação desses sinalizadores de adiposidade (NEGRÃO; LICINIO, 2000; SANTANNA; CAIADO; SILVA, 2014).

2.3.1.2 Sinais de curto prazo

O trato gastrointestinal detém diferentes tipos de células secretoras de peptídeos que atuam em conjunto com outros sinais na regulação da fome e saciedade (RINDI et al., 2004). O núcleo hipotalâmico paraventricular também recebe sinais de peptídeos que se relacionam com a fome e saciedade, os quais atuam também em receptores dos nervos autônomos e, principalmente, do nervo vago. Dentre eles, destacam-se a grelina, colecistoquinina (CCK), peptídeo YY (PYY), amilina e peptídeo semelhante a glucagon 1 (GLP-1).

2.3.1.2.1 Grelina

A grelina é secretada na mucosa gástrica, sendo um dos sinalizadores de curto prazo para o início da ingestão alimentar. Durante o jejum, os níveis circulantes de grelina estão mais altos, caindo imediatamente após a alimentação (LEIDY et al.,

2004; ROMERO; ZANESCO, 2006). Em humanos obesos, a rápida queda da grelina após a refeição é reduzida em comparação com indivíduos magros, que também podem ser mais sensíveis ao estímulo do apetite provocado por ela (BUSS et al., 2014). É conhecida como o hormônio da fome, pois atua na região hipotalâmica do núcleo arqueado aumentando a atividade dos neurônios NPY/AgRP, e antagonicamente, inibindo os neurônios da POMC (DATE et al., 2000).

2.3.1.2.2 Colecistoquinina (CCK)

A colecistoquinina é um hormônio liberado pelas células I do trato gastrointestinal, principalmente do duodeno e jejuno, e são produzidas em resposta à macronutrientes como lipídeos e proteínas. Esse hormônio retarda o esvaziamento gástrico, mantendo a distensão estomacal, provocando a saciedade e finalização da refeição. Além disso, a CCK aumenta a secreção pancreática e biliar, e a contração vesicular (KONTUREK et al., 2004).

2.3.1.2.3 Peptídeo YY (PYY)

Secretado pelas células L do trato gastrointestinal, especialmente pela porção distal, no período pós-prandial, que inibe a ingestão alimentar. Os níveis plasmáticos também se correlacionam com a ingestão alimentar, principalmente de lipídeos. É secretado de duas formas diferentes, PYY₍₁₋₃₆₎ e PYY₍₃₋₃₆₎, sendo a segunda forma a principal circulante produzida pela clivagem do PYY₍₁₋₃₆₎ pela enzima dipeptidil peptidase IV (DPP-IV). O PYY₍₃₋₃₆₎ se liga ao receptor Y2 hipotalâmico reduzindo a ingestão alimentar (KONTUREK et al., 2004).

2.3.1.2.4 Peptídeo semelhante ao glucagon 1 (GLP-1)

Também secretado pelas células L do trato gastrointestinal, o GLP-1 pertence à classe dos hormônios anorexígenos e a sua secreção é afetada por macronutrientes presentes no lúmen intestinal, mais especificamente os carboidratos. Os níveis circulantes de GLP-1 são baixos durante o período de jejum e aumentam após a refeição. Esse hormônio tem a função de regular o nível de glicose no sangue e sua liberação aumenta a sensibilidade à insulina, inibindo a ação do glucagon, agindo

como uma incretina. O feito insulíntrópico do GLP-1 retarda o esvaziamento gástrico e diminui a motilidade gástrica, resultando na redução do apetite (MISHRA; DUBEY; GHOSH, 2016).

2.3.1.2.5 Amilina

É um hormônio armazenado e liberado juntamente com a insulina. Atua no retardo do esvaziamento gástrico e no início de uma nova refeição, atuando na saciedade. Sua ação se dá pelo fato de possuir receptores no nervo vago e em áreas hipotalâmicas que controlam o apetite (REIDELBERGER et al., 2001).

2.4 TECIDO ADIPOSEO

O consumo energético excessivo se deposita em forma de tecido adiposo (MACHADO; JERICÓ, 2015). Em humanos e em cães, existem dois tipos de tecido adiposo, o branco (TAB) e o marrom (TAM). O TAB é constituído por grandes e numerosas células, repletas de lipídeos (triglicérides), sendo responsável pela síntese hormonal e representa a maioria do tecido adiposo no indivíduo adulto. Já o TAM constitui-se de gotículas lipídicas e é responsável pela termogênese no neonato, sendo encontrado em maior quantidade nessa faixa etária (ZORAN, 2010).

A unidade anatomofuncional do tecido adiposo denomina-se adipócito e seu diâmetro varia entre 10 e 100 μm , sendo as células mais volumosas do organismo e durante o balanço energético positivo, são capazes de alcançar diâmetro 10 vezes maior (MACHADO; JERICÓ, 2015). O tecido adiposo é um órgão de alta complexidade, que se constitui de adipócitos, pré-adipócitos, células-tronco mesenquimais multipotentes, células endoteliais, células periféricas, monócitos, macrófagos e células nervosas (ZORAN, 2010). Importante função desse órgão é armazenar e disponibilizar gordura corporal, principalmente sob a forma de triglicérides.

A obesidade pode ser classificada como hiperplásica ou hipertrófica, dependendo da celularidade do tecido adiposo. A hiperplásica se define pelo maior número de células adiposas e desenvolve-se na fase de crescimento, quando ocorre ganho de peso. Já a hipertrófica, ou também conhecida como simples, é caracterizada

pelo aumento no tamanho de um adipócito já existente devido ao acúmulo de gordura intracelular (ZORAN, 2010; CASE; CAREY; HIRAKAWA, 1998).

2.4.1 Tecido adiposo como órgão endócrino

A obesidade é conceituada como um estado inflamatório de baixo grau, decorrente da produção ativa pelo tecido adiposo de hormônios, citocinas e outras substâncias de sinalização celular, chamadas de adipocinas (TRAYHURN, 2005; ZORAN, 2010). Cerca de 100 adipocinas diferentes foram caracterizadas em humanos e roedores, apresentando efeitos que podem influenciar em muitos sistemas biológicos incluindo homeostase da glicose, inflamação e imunidade, hemostasia, equilíbrio de fluidos, biologia vascular, hematopoiese, proliferação celular, angiogênese e funções neurotróficas (RADIN; SHARKEY; HOLYCROSS, 2009; GERMAN et al., 2010a).

2.4.1.1 Leptina

O termo leptina originou-se do grego *leptos*, que significa magro, foi descoberta em meados de 1994 por Zhang e colaboradores e é a adipocina mais bem caracterizada em cães e gatos. A leptina é uma proteína codificada pelo gene *ob*, e ainda que os adipócitos sejam o principal local de produção, o mRNA da leptina pode ser encontrado na placenta, glândula mamária e fígado em humanos e roedores (ZORAN, 2010). Em magros e obesos, o tecido adiposo subcutâneo (TAS) tem maior expressão e secreção de leptina, em relação ao tecido adiposo visceral (TAV), podendo chegar a valores 2 a 8 vezes maiores. Embora o TAV tenha uma menor expressão em comparação ao TAS, a liberação da leptina é proporcional ao tamanho da massa total do TAV, ou seja, também é aumentada nesse depósito de gordura em indivíduos obesos (NEGRÃO; LICINIO, 2000).

Nos estudos iniciais sobre a leptina, acreditava-se que suas ações primárias fossem a supressão do apetite e o aumento do gasto energético via termogênese. Tais relatórios foram baseados em camundongos modelos, que mostraram que a ausência dessa adipocina implicou em obesidade grave (ZHANG et al., 1994). Estudos posteriores mostraram que a ligação da leptina ao seu receptor no hipotálamo origina uma série de eventos que levam à supressão do apetite, supressão de

neurônios orexigênicos e supressão da liberação de endocanabinoides, que são reguladores de neurônios orexígenos (AHIMA et al., 1996).

Está claro que em roedores a deficiência de leptina causa a obesidade, mas essa deficiência não é causa comum de obesidade em humanos, cães e gatos. Ao contrário disso, em humanos e em cães e gatos observa-se altas concentrações de leptina em circulação e o problema não é deficiência de leptina, mas resposta diminuída do órgão-alvo à leptina no hipotálamo, desencadeando um quadro chamado de hiperleptinemia (ZORAN, 2010). À semelhança do que se postula para o diabetes *mellitus* não dependente de insulina, considera-se que na obesidade ocorre um estado de resistência à leptina. Dessa forma, entende-se que, a curto prazo, o excesso de leptina pode levar à diminuição da sensibilidade dos receptores centrais e ao reajuste do seu efeito inibitório sobre o apetite (NEGRÃO; LICÍNIO, 2000).

Em cães e gatos, após o consumo de um alimento com alta densidade energética ou rico em lipídeos, as concentrações de leptina aumentam. As concentrações séricas dessa adipocina excedem em duas a três vezes (ISHIOKA et al., 2005). De forma parecida aos humanos, com o aumento de tecido adiposo ocorre também o aumento das concentrações plasmáticas circulantes de leptina e à medida que se reduz a massa de gordura, também resulta na diminuição das concentrações de leptina (GERMAN et al., 2010a).

2.4.1.2 Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- α)

O Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- α) é uma citocina pró-inflamatória que exerce funções biológicas como proliferação, diferenciação celular e apoptose (BOUCHER, 2005). Essa citocina está ativamente envolvida em muitos processos, incluindo inflamação, doenças autoimunes e obesidade (ZORAN, 2010). O TNF- α tem ação no tecido adiposo, coibindo a sua diferenciação e limitando a sua capacidade de armazenamento de lipídios, podendo acentuar, em indivíduos obesos, a hiperlipidemia e lipotoxicidade nos demais órgãos (RADIN; SHARKEY; HOLYCROSS, 2009).

Exerce um importante papel no desenvolvimento da resistência à insulina como resultado de sua capacidade de diminuir a regulação do transportador de glicose 4 (GLUT 4) no tecido adiposo (ZORAN, 2010). Em ratos obesos, foi documentado que a neutralização do TNF- α melhorou a captação de glicose em resposta à ação da insulina, indicando sua relação com a resistência insulínica na obesidade. Em

humanos obesos, a supressão da sinalização da insulina pelo TNF- α , resultou na diminuição de síntese e translocação do GLUT 4 para a membrana celular, conseqüentemente reduzindo a captação da glicose pelas células, mediada pela ação da insulina. Tal redução na sensibilidade periférica à insulina caracteriza quadro de resistência insulínica (HERMSDORFF; MONTEIRO, 2004; ZORAN, 2010).

Gayet e colaboradores (2004) demonstraram que, em cães, a obesidade induzida está associada com elevação na concentração plasmática de insulina, TNF- α , ácidos graxos não esterificados e fator de crescimento-1 semelhante à insulina. Tais alterações metabólicas e hormonais podem explicar a redução da sensibilidade à insulina.

2.4.1.3 Interleucina-6 (IL-6)

Também é uma citocina pró-inflamatória, secretada por monócitos, macrófagos, linfócitos, fibroblastos e adipócitos que estimula a produção de células de imunoglobulina B, a proliferação de células T e a ativação do mecanismo natural de morte celular e citotoxicidade (MACHADO; JERICÓ, 2015). Sua atividade se estende ao metabolismo de carboidratos e lipídios. A administração de IL-6 em humanos saudáveis intensifica a lipólise, independentemente da modulação de catecolaminas, glucagon e insulina, apontando a IL-6 como um fator relevante no metabolismo lipídico. A IL-6 também inibe a expressão da enzima lipase-lipoproteica e eleva a liberação de ácidos graxos livres e glicerol. Ademais, sua elevada expressão pode se associar com a supressão da leptina e estimulação da proteína C reativa, assim como a diminuição redução da expressão do GLUT 4 nos tecidos muscular e hepático (MONTEIRO, 2004).

Em indivíduos obesos ocorre aumento da expressão de IL-6, sendo que os depósitos de gordura abdominal são os maiores contribuintes para a secreção aumentada. Em cães, já foi demonstrado que antes e após a perda de peso, os níveis plasmáticos circulantes de IL-6 eram baixos, dessa forma é provável que cães, os níveis dessa citocina são muito menores que em seres humanos (GERMAN et al., 2010a).

2.4.1.4 Interleucina-10 (IL-10)

A IL-10 é uma citocina que desempenha papel anti-inflamatório contrabalanceando as citocinas pró-inflamatórias como a TNF- α , entretanto, sua expressão é aumentada na obesidade em humanos (JUGE-AUBRY et al., 2005; GERMAN, 2010b). Apesar do perfil anti-inflamatório dessa citocina, ela pode estar co-elevada na obesidade como resposta ao aumento de citocina pró-inflamatórias (VAN DE VELDE et al., 2013).

2.4.1.5 Interleucina-1 beta (IL-1 β)

A IL-1 β é uma das formas moleculares da IL-1, produzida por praticamente todos os tipos celulares nucleados, principalmente monócitos, macrófagos e células dendríticas, é um importante marcador de indução de resposta inflamatória. Juntamente com o TNF- α e IL-6, a IL-1 β prejudica a ação da insulina e a captação de glicose nos tecidos periféricos (GRANT; DIXIT, 2015). Em adipócitos de camundongos obesos, foram encontrados níveis mais elevados dessa interleucina e em um estudo com humanos obesos o emagrecimento resultou na redução da expressão da IL-1 β e melhora na sensibilidade à insulina. (DINARELLO; DONATH; MANDRUP-POULSEN, 2010; MOSCHEN et al., 2011).

2.4.1.6 Proteína C Reativa

A proteína C reativa (PC-R) é uma proteína imunologicamente anômala, que se caracteriza pela capacidade de precipitar-se diante do polissacarídeo C somático isolado de pneumococo. Surge constantemente no soro durante a evolução de processos inflamatórios, principalmente de caráter agudo. Trata-se de um indicador altamente sensível de inflamação, sua presença pode ser um sinal significativo de processo patológico, desse modo, pode ser considerada um marcador inflamatório (HAIDARI et al., 2001).

Em razão da significativa expressão de PCR nos depósitos de gordura, considera-se o tecido adiposo abdominal um sinalizador de altas concentrações dessa proteína. Mulheres com alta quantidade de gordura corporal apresentam níveis séricos de PCR significativamente maiores que aquelas com menor quantidade de gordura corporal (REXRODE et al., 2003). Em contraste, estudo com cães demonstrou que os valores das concentrações séricas de proteína C reativa nos

animais obesos foram menores quando comparados com o grupo controle não obeso (VEIGA et al., 2008). Os resultados disponíveis na literatura sobre as concentrações da PCR em cães obesos são conflitantes, sendo necessários mais estudos para melhor compreensão do comportamento desta proteína em animais com excesso de adiposidade.

2.5 DIAGNÓSTICO DA OBESIDADE

As medições de adiposidade abrangem definir a composição corporal ou as quantidades relativas dos componentes presentes no corpo. Existem várias técnicas para determinar a composição corporal e elas se diferenciam na aplicabilidade à pesquisa ou à prática clínica (GERMAN, 2006).

O método mais utilizado na rotina clínica, devido à sua fácil aplicação, é a avaliação do escore de condição corporal (ECC), que fornece informações semi-quantitativas da composição corporal (LAFLAMME, 1997). Nessa avaliação proposta por Laflamme, é feita a inspeção e palpação do tecido adiposo acumulado nos cães e gatos (GERMAN, 2006). Vários sistemas de escalas foram propostos, sendo a escala de 1 a 9 pontos a mais aceita, onde 1 representa o animal exacerbadamente magro, 2 e 3 magro, 4 e 5 escore ideal, 6 e 7 com sobrepeso e 8 e 9 obeso (LAFLAMME, 1997).

Existem também outros métodos de se avaliar a obesidade de um animal como a tomografia computadorizada, densitometria por dupla emissão de raios (DEXA), impedância bioelétrica, ultrassonografia (GERMAN, 2006; GERMAN et al., 2010b). Tais métodos geralmente possuem custo mais elevado, necessitam de profissionais ou equipamentos especializados e, por isso, são de maior aplicabilidade à pesquisa.

O principal conceito da determinação da composição corporal é a relação entre a constituição de massa gorda e massa magra (BURKHOLDER, 2001; GERMAN, 2006). Um método relativamente simples para determinação da composição corporal é a técnica de diluição de isótopos de deutério, pois ela permite uma precisa determinação do volume de água corporal e, como a água mantém uma relação relativamente estável com o tecido muscular, seu cálculo é preciso e conseqüentemente, é possível determinar o tecido adiposo (FERRIER et al., 2002).

2.6 TRATAMENTO

O balanço energético positivo é o principal fator determinante da origem e manutenção do sobrepeso e obesidade. Sendo assim, o estabelecimento de um balanço energético negativo é o primeiro passo para o tratamento da obesidade (GERMAN, 2006). Um programa de perda de peso individualizado efetivo deve promover uma taxa de perda de peso constante e saudável para reduzir o risco de doenças, prevenir a desnutrição e melhorar a qualidade de vida. O emagrecimento ocorre quando há balanço energético negativo e pode estar associada ou não a prática de exercícios físicos (BROOKS et al., 2014). Sendo assim, o animal mobilizará seus estoques de gordura para o alcance da energia necessária, esperando-se que ocorra perda mínima de tecido muscular (NRC, 2006).

2.6.1 Protocolo de perda de peso

Para que o balanço energético negativo aconteça e o animal emagreça adequadamente é necessário seguir algumas etapas. Inicialmente, faz-se necessário avaliar o excesso de peso do animal através da avaliação do ECC. Após isso, calcula-se o peso meta (PM) do animal. Animais obesos, classificados com ECC 8 ou 9/9, o PM deverá ser o seu peso atual multiplicado pela constante 0,80 (CARCIOFI et al., 2005). O próximo passo é calcular a necessidade energética para perda de peso (NEPP), que pode ser calculada da seguinte forma:

$$\text{NEPP (kcal/dia)} = \text{PM}^{0,75} \times 70$$

Após obter a NEPP, calcula-se a quantidade diária do alimento hipocalórico escolhido por meio da seguinte equação:

$$\text{Quantidade diária (g/dia)} = \text{NEPP/Energia metabolizável do alimento (kcal/g)}$$

Para que a protocolo ocorra de maneira saudável evitando a perda de peso excessiva, que pode ocasionar em perda de massa muscular relacionada ao excesso de peso perdido, ou de maneira oposta, a insuficiente perda de peso, que altera a efetividade do programa, em cada retorno é feito o cálculo da taxa de perda de peso

semanal (TPPS). Em cães, a TPPS desejável fica entre 1% a 2% semanais (BROOKS et al., 2014) e é calculada através da equação:

$$TPPS(\%) = \frac{\left(\frac{\text{Peso anterior} - \text{Peso atual}}{\text{Peso anterior}}\right)}{\text{n}^\circ \text{ de semanas entre consultas}} \times 100$$

O ideal é que haja reavaliações a cada 15 ou 21 dias para verificar a adesão ao protocolo de perda de peso, se TPPS está dentro do desejado e realizar ajustes na NEPP quando necessário. Com as etapas realizadas adequadamente, sem alterações por parte dos tutores, são grandes as chances de sucesso. É importante que a prática de atividade física seja estimulada, pois ela eleva o gasto energético, auxiliando a manutenção muscular (CARCIOFI et al., 2005).

2.6.2 Escolha do alimento hipocalórico

Os alimentos destinados à perda de peso possuem algumas características sendo a principal delas o equilíbrio nutricional ajustado a baixa densidade calórica, de forma a favorecer a manutenção do consumo de nutrientes não energéticos frente ao balanço energético negativo induzido no animal e mantendo o funcionamento adequado do organismo, sem conduzir o animal à desnutrição (FEDIAF, 2021).

O elevado teor proteico é também uma característica nesse tipo de alimento, que tem como objetivo a manutenção da massa corporal magra, minimizando as perdas deste tecido decorrentes do programa de perda de peso (NRC, 2006). Vasconcellos et al. (2009) demonstraram que uma dieta hipocalórica e hiperproteica preservou a massa magra de gatos em processo de emagrecimento quando comparada a dieta controle.

A utilização de concentrações mais altas de fibras nas dietas para perda de peso também apresenta vantagens, pois além de reduzirem a densidade energética do alimento, auxiliam no controle da glicemia e lipidemia, reduzem a digestibilidade da gordura e carboidrato e, assim, auxiliam na sensação de saciedade (BURTON-FREEMAN, 2000). As fibras não fermentáveis ou pouco fermentáveis, proporcionam sensação de saciedade através do preenchimento do estômago e intestino, bem como no retardo do esvaziamento gástrico. Já as fibras fermentáveis estão associadas com a produção de hormônios da saciedade (BOSCH et al., 2009). German et al. (2010c)

avaliaram o desempenho de um alimento hipocalórico rico em fibras e proteínas em cães obesos submetidos a perda de peso, em comparação a um com baixo teor de fibras e rico em proteínas. O estudo demonstrou que o grupo de animais que consumia o alimento rico em fibras e proteínas teve maior porcentagem de perda de peso, maior taxa de perda de peso semanal e maior perda de massa gorda, demonstrando assim, melhor resultado da perda de peso em cães obesos.

A utilização de amido de baixo índice glicêmico para cães como ervilha, lentilha e sorgo também traz benefícios ao programa de emagrecimento. Alimentos à base de tais fontes de amido demonstraram-se eficientes na redução da onda pós-prandial imediata produzida por alimentos formulados com amido de alto índice glicêmico (CARCIOFI et al., 2008). Glicemia e insulinemia estão associadas à saciedade, desta forma, amidos de digestão lenta são recomendados para animais em processo de perda de peso.

2.6.2.1 Alimento úmido

O uso dos alimentos úmidos está se tornando cada vez mais comum na rotina alimentar de cães e gatos. Tratam-se de alimentos com alto teor de água, segundo a FEDIAF (2021), necessitam ter ao menos 60% de umidade em sua composição para que recebam essa classificação. São comercializados comumente em latas ou sachês e podem apresentar diferentes texturas, como patês, pedaços ao molho ou pastas. No mercado existem dois tipos de alimentos úmidos, os completos e coadjuvantes, que atendem a todas as necessidades nutricionais de cães e gatos, podendo substituir totalmente o alimento seco e os específicos, que possuem a finalidade de agrado ou petisco.

A fabricação dos alimentos úmidos difere dos alimentos secos, que, no caso destes últimos, se dá pelo processo de extrusão. Para os úmidos é realizado um cozimento a vapor, que permite maior inclusão de ingredientes com elevada umidade, como carnes e vegetais frescos, além disso, possui menor percentual de carboidratos, características que em conjunto tornam o alimento mais palatável. Esse cozimento é realizado dentro da própria embalagem por um processo de autoclavagem, tornando o alimento estéril.

As diferentes texturas que esses alimentos apresentam os tornam mais atrativos e juntamente com o aroma, elevam a palatabilidade para os cães e gatos,

sendo esse, um dos benefícios dos alimentos úmidos. Além disso, o alto teor de umidade pode contribuir para o equilíbrio hídrico e hidratação, auxiliando na manutenção da saúde do trato urinário (BUCKLEY et al., 2011).

2.6.2.2 Utilização do alimento úmido no processo de perda de peso

Para o auxílio da perda de peso, existe no mercado alimento úmido hipocalórico, pois além de possuir alto teor de água que conseqüentemente proporciona menor quantidade calórica por volume de alimento, esse alimento também possui as calorias reduzidas em comparação aos alimentos úmidos completos de manutenção, devido a menor inclusão de fontes de lipídios. Os demais nutrientes passam por ajustes de acordo com a energia do alimento, evitando assim, deficiências nutricionais, como retromencionado.

Por possuir menor densidade calórica, o volume ingerido desse tipo de alimento torna-se maior em comparação ao alimento seco, o que pode contribuir para maior sensação de saciedade, devido ao preenchimento do estômago. Além disso, por gerar sensação de saciedade, ocorre a redução do comportamento de mendicância, contribuindo para maior adesão ao programa de perda de peso (FLANAGAN; FEUGIER; VIALLE, 2017).

O processo de fabricação que, como já citado anteriormente, permite maior inclusão de ingredientes como carne fresca e vegetais, torna os alimentos úmidos mais ricos em proteína, que proporciona mais saciedade ao animal e auxilia na manutenção da massa magra (WEBER et al., 2007). O alimento úmido pode ser fornecido ao animal de forma única e exclusiva ou por meio de uma combinação fracionada com o alimento seco, essa combinação é conhecida por *mix feeding*.

Ainda são necessários mais estudos que investiguem benefícios ou não do uso de alimento úmido e seu emprego no processo de perda de peso, principalmente em cães, haja vista que os poucos estudos encontrados em literatura sobre o tema são na espécie felina.

3 HIPÓTESE

O uso do *mix feeding*, substituindo 20% de alimento hipocalórico seco por alimento hipocalórico úmido, no programa de perda de peso em cães obesos promoverá maior perda de peso devido à maior promoção de saciedade, sem interferir em parâmetros bioquímicos e inflamatórios.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivos geral

O objetivo principal do estudo foi avaliar o efeito do *mix feeding* na perda de peso (alimento seco com substituição de 20% por alimento hipocalórico úmido) em parâmetros bioquímicos, hormonais e inflamatórios de cães obesos submetidos a perda de peso.

4.2. Objetivos específicos

- Avaliar o efeito do *mix feeding* em variáveis do programa de perda de peso, indicado pela quantidade de meses para atingir o peso meta, taxa de perda de peso semanal e ingestão calórica para perda de peso.

- Investigar o efeito do *mix feeding* em parâmetros bioquímicos (proteína total, albumina, alanina aminotransferase, fosfatase alcalina, ureia, creatinina, triglicérides, colesterol, glicose e frutossamina), inflamatórios (proteína C reativa e citocinas séricas IL-1 β , IL-6, IL-10 e TNF- α) e hormonal (colecistoquinina).

5 MATERIAL E MÉTODOS

Os animais utilizados para este estudo foram provenientes da rotina de atendimento do Serviço de Clínica Médica de Pequenos Animais do Hospital Veterinário (HOVET) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ/USP), mediante autorização dos proprietários responsáveis pelos pacientes incluídos na pesquisa e após assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido que foi explanado e disponibilizado.

Todos os procedimentos foram realizados de acordo com os princípios éticos de experimentação animal e sob aprovação prévia da Comissão de Ética e Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo sob o número de aprovação 5028010719.

5.1 ANIMAIS

Foram incluídos cães de tutores, machos e fêmeas, com idade entre 1 a 12 anos, obesos conforme classificação do ECC em escala descrita por LAFLAMME et al. (1997). O recrutamento foi realizado durante a rotina de atendimento do HOVET da FMVZ/USP, tendo como critérios de seleção cães com ECC 8 ou 9/9, cujo ganho de peso tivesse acontecido naturalmente. Para inclusão no estudo, os animais selecionados foram submetidos a avaliação clínica e exames complementares de forma a descartar a presença de comorbidades. Foram realizados hemograma, determinação sérica das concentrações de ureia, creatinina, proteínas totais, albumina, triglicérides e colesterol e atividade das enzimas fosfatase alcalina e alanina aminotransferase.

Após a seleção, os cães foram aleatoriamente divididos em dois grupos que diferiam no manejo alimentar empregado para a perda de peso. O Grupo RS foi composto por animais que receberam 100% da necessidade energética para perda de peso (NEPP) em alimento hipocalórico seco e o Grupo MF, no qual o manejo alimentar foi realizado pelo método de *mix feeding*, foi composto por animais que recebiam 80% da NEPP proveniente do mesmo alimento hipocalórico seco utilizado no grupo RS e 20% proveniente de alimento hipocalórico úmido em refeição intercalada.

5.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O projeto foi conduzido em um ensaio clínico prospectivo randomizado onde os animais considerados elegíveis para participar do estudo foram divididos de modo aleatório nos dois grupos experimentais. A randomização foi feita através do software Microsoft Excel, utilizando a função “aleatório”, na qual foi gerada uma lista aleatória com o número do animal e duas possibilidades de grupo (A – grupo RS, B – grupo MF) correspondente a cada número, sendo que a ordem de entrada dos cães no estudo seguiu essa lista, assim determinando se o animal era agrupado em A ou B.

Após a randomização, os responsáveis pelos animais recebiam a orientação nutricional para realização do programa de perda de peso e retornos eram realizados a cada 30 dias para acompanhamento do paciente e coleta de dados da perda de peso, nestes retornos quando verificada que a taxa de perda de peso semanal calculada não encontrava-se dentro do esperado era realizado ajuste na quantidade de alimento oferecida ao animal para mais ou menos 10%, de acordo com a TPPS obtida. O acompanhamento seguia até que o animal alcançasse o ECC ideal ou obtivesse perda mínima de 20% do peso inicial. Neste momento de finalização eram feitas novas coletas de amostras sanguíneas para realização das análises em estudo.

Em resumo as coletas foram realizadas, em momento inicial, quando eram incluídos no estudo e no momento final, ao atingirem ECC 5/9 ou na perda de, no mínimo, 20% do peso corporal inicial. Nestes dois momentos, os animais foram submetidos à coleta de sangue por punção venosa de jugular para realização dos exames do perfil bioquímico sérico (que compreendem proteína total, albumina, ureia, creatinina, triglicérides, colesterol, glicose, frutossamina e atividade das enzimas alanina aminotransferase e fosfatase alcalina) e das avaliações do perfil inflamatório (proteína C reativa e citocinas séricas IL-1 β , IL-6, IL-10 e TNF- α) além da mensuração do hormônio gastrointestinal colecistoquinina (CCK).

5.3 ALIMENTOS EXPERIMENTAIS

Para realização do programa de perda de peso foram produzidos alimentos coadjuvantes hipocalóricos em duas apresentações, ração seca e ração úmida, sendo formuladas de forma a atender as necessidades nutricionais de um cão adulto de acordo com a FEDIAF (2021). Todos os alimentos, hipocalórico seco e úmido,

foram produzidas na Adimax - Indústria de Alimentos Ltda, localizada em Salto de Pirapora – SP (Tabela 1, 2). A composição química analisada, energia metabolizável e os ingredientes dos alimentos utilizados estão apresentados, respectivamente, na tabela 1 e tabela 2.

Tabela 1. Composição química analisada na matéria seca, energia metabolizável e ingredientes¹ do alimento hipocalórico seco utilizado no estudo.

Item	%
Matéria seca	94,99
Proteína bruta	34,86
Extrato etéreo	9,75
Matéria mineral	8,58
Matéria fibrosa	9,70
Energia metabolizável (kcal/kg)	3.022,00

Fonte: PEREIRA, 2022

Carne de frango, carne mecanicamente separada de frango, fígado de frango, farinha de vísceras de aves, fécula de mandioca, farinha de mandioca, levedura seca de cerveja, fibra de cana de açúcar, polpa de beterraba, farelo de goiaba, maçã e tomate desidratados, óleo de aves, óleo de salmão, hidrolisado de fígado, semente de linhaça, cloreto de sódio, farinha de algas *Schizochytrium* sp., zeólita, parede celular de levedura, frutoligossacarídeos, inulina, extrato de yucca, colágeno hidrolisado (2,5%), sulfato de condroitina, sulfato de glicosamina, vitaminas (retinol, colecalciferol, vitamina E, menadiona bissulfito de sódio, ácido ascórbico, tiamina, riboflavina, piridoxina, cianocobalamina, biotina, pantotenato de cálcio, ácido fólico, niacina, cloreto de colina), minerais (sulfato de ferro, sulfato de cobre, iodato de cálcio, cloreto de potássio, proteinato de zinco, óxido de zinco, óxido de manganês, proteinato de selênio, selenito de sódio), lisina, metionina, taurina, triptofano, L-carnitina, extratos de chá verde, alecrim e cúrcuma, concentrado de tocoferóis

Tabela 2. Composição química analisada na matéria seca, energia metabolizável e ingredientes¹ do alimento hipocalórico úmido utilizado no estudo.

Item	%
Matéria seca	18,34
Proteína bruta	46,54
Extrato etéreo	9,87
Matéria mineral	8,96
Matéria fibrosa	8,25
Energia metabolizável (kcal/kg)	558,00

Fonte: PEREIRA, 2022

¹Água, carne de frango, fígado de frango, fígado suíno, fibra de cana-de-açúcar, plasma sanguíneo desidratado de suíno, fécula de mandioca, goma xantana, carbonato de cálcio, tripolifosfato de sódio, Biomassa de Microalgas (*Schizochytrium* sp.), parede celular de levedura, frutoligossacarídeos, inulina, subproduto da extração da l-cistina, extrato de yucca, colágeno hidrolisado (0,5%), sulfato de condroitina, sulfato de glicosamina, vitaminas (retinol, colecalciferol, Acetato de DL-Alfa-Tocoferol, bissulfito sódico de menadiona, ácido ascórbico, cloridrato de tiamina, riboflavina, piridoxina, cianocobalamina, biotina, pantotenato de cálcio, ácido fólico, niacina, cloreto de colina), minerais (sulfato de ferro, sulfato de cobre, iodato de cálcio, cloreto de potássio, proteinato de zinco, sulfato de zinco, sulfato de manganês, proteinato de manganês, levedura enriquecida com selênio, selenito de sódio), glicina, lisina, metionina, taurina, triptofano, L-carnitina.

5.4 PROTOCOLO DE PERDA DE PESO

Os cães obesos incluídos no estudo foram submetidos a perda de peso de forma controlada durante todo o ensaio, sendo a quantidade de alimento a ser fornecida determinada a partir da equação para cálculo da necessidade energética para perda de peso (NEPP) e conteúdo de energia metabolizável contido nos alimentos utilizados.

A fórmula para estimativa da NEPP utilizada foi: $NEPP \text{ (kcal/dia)} = 70 \times \text{Peso meta (kg)}^{0,75}$ de modo que o peso meta (PM) para animais de ECC 8/9 e 9/9 foi determinado a partir da subtração de 20% do peso corporal atual do animal, podendo fazer uso da seguinte equação: $PM = \text{Peso Corporal (em kg)} \times 0,8$ (CARCIOFI et al., 2005).

Para os animais do grupo MF, do cálculo da NEPP, 20% das quilocalorias foram provenientes do alimento hipocalórico úmido e 80% do alimento hipocalórico seco.

Após o cálculo da NEPP, calcula-se a quantidade diária do alimento hipocalórico escolhido por meio da seguinte equação:

$$\text{Quantidade diária (g/dia)} = \text{NEPP/Energia metabolizável do alimento (kcal/g)}$$

Os cães participantes do estudo foram reavaliados e pesados a cada 30 dias, para acompanhamento da perda de peso e realização de possíveis ajustes, caso necessário. A quantidade de alimento foi ajustada de forma que a taxa de perda de peso semanal ficasse entre 1,0 e 2,0% e foi utilizada a seguinte fórmula (BROOKS et al., 2014):

$$TPPS(\%) = \frac{\left(\frac{\text{Peso anterior} - \text{Peso atual}}{\text{Peso anterior}} \right)}{\text{n}^\circ \text{ de semanas entre consultas}} \times 100$$

Se a TPPS estivesse entre 1% a 2%, as quilocalorias diárias se mantinham as mesmas, porém se estivesse abaixo de 1% com o tutor relatando conformidade no

acompanhamento do protocolo, isto é, sem fornecer outros alimentos como petiscos, alimentos humanos, ou quaisquer outros, era realizada a redução de 10% nas quilocalorias diárias. Ao contrário, se a TPPS ficasse acima de 2%, aumentava-se 10% nas quilocalorias diárias. Os reajustes e acompanhamentos foram conduzidos dessa forma até que os animais atingissem 20% de perda de peso ou o escore de condição corporal ideal.

Os tutores foram instruídos a realizar o manejo alimentar da seguinte forma: no grupo RS o alimento era fornecido duas vezes ao dia, pela manhã e no início da noite, e no grupo MF o alimento seco era fornecido também em duas vezes, de manhã e início da noite, sendo que a porção total de ração hipocalórica úmida era fornecida entre essas duas refeições, no “horário de almoço”. Foi recomendada oferta de água limpa e fresca a vontade ao longo do estudo. Os tutores também foram instruídos rigorosamente a pesar a quantidade diária de alimento em balança digital de cozinha e a não oferecer nenhum outro alimento ou petisco durante o período do programa de perda de peso.

5.5 PARÂMETROS AVALIADOS

5.5.1 Variáveis de perda de peso

Para a avaliação da efetividade do protocolo de perda de peso foram obtidos e analisados dados do programa de perda de peso, a saber: duração do programa (em meses); TPPS média; peso inicial, meta e final dos grupos; ECC inicial e final e ingestão calórica inicial e final.

5.5.2 Parâmetros bioquímicos

Os parâmetros bioquímicos séricos analisados (proteína total, albumina, alanina aminotransferase, fosfatase alcalina, ureia, creatinina, triglicérides, colesterol, glicose e frutossamina) foram realizados no Laboratório Clínico do Departamento de Clínica Médica da FMVZ-USP, conforme metodologia empregada no mesmo. A coleta de sangue foi realizada por meio de punção da veia jugular, com o animal previamente em jejum alimentar de 12 horas. Foi adicionado 1 ml de sangue em tubo com fluoreto de sódio para quantificação de glicose. Para as demais

avaliações, 2 ml de sangue foi disposto em tubo seco sem anticoagulante para obtenção de soro.

A determinação de proteína total foi realizada utilizando-se o método colorimétrico do biureto e a dosagem de albumina pelo método verde de bromocresol. Na avaliação da atividade das enzimas hepáticas ALT e FA foram utilizados os protocolos do fabricante Biosystems AS (Barcelona, Espanha) no analisador bioquímico automático Labmax 240 (marca Labtest® Lagoa Santa, Minas Gerais).

As dosagens de ureia e creatinina foram realizadas de acordo com as recomendações dos fabricantes Diasys® (Holzheim, Alemanha) e Labtest® (Lagoa Santa, Minas Gerais) respectivamente.

Os exames de colesterol, triglicerídeos e frutossamina foram realizados de acordo com as recomendações do fabricante Labtest® (Lagoa Santa, Minas Gerais).

5.5.3 Perfil inflamatório

Para as análises de IL-6, IL-10 e TNF- α , 2 ml de sangue, coletado via punção da veia jugular com o animal previamente em jejum alimentar de 12 horas, foi depositado em tubo sem anticoagulante e reservado por 30 minutos para coagulação à temperatura ambiente. Em seguida, a amostra foi centrifugada por 20 minutos a 3.000 rpm e imediatamente armazenada em *ependorfs* em freezer -20°C para posterior análise. As dosagens foram realizadas em laboratório especializado em análises científicas (LEAC, São Paulo - SP) por meio do painel MILLIPLEX MAP CanineCytokines (CCYTOMAG-90K Millipore, St. Charles, Missouri, EUA). As amostras e padrões foram incubados com as microesferas acopladas a um anticorpo específico. Após lavagem, adicionou-se o anticorpo biotilado de detecção. Então, realizou-se a incubação com estreptavidina-PE. As amostras foram lidas no sistema de array líquido – MILLIplex

Para análise de PCR e IL-1 β , 2 ml de sangue, coletado via punção da veia jugular com o animal previamente em jejum alimentar de 12 horas, foi depositado em tubo sem anticoagulante e deixado por 30 minutos para coagulação. Em seguida, a amostra foi centrifugada por 20 minutos a 3.000 rpm e imediatamente armazenada em *ependorfs* em freezer -20°C para posterior análise. A dosagem de PCR e IL-1 β foram realizadas em laboratório especializado em análises científicas (LEAC, São

Paulo) utilizando a metodologia ELISA (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*), kit ELK6838 e ELK1296, fornecedor *ELK Biotechnology* (Wuhan, China). O princípio do teste adotado nos respectivos kits é o imunoensaio enzimático Sandwich. Uma placa de microtitulação fornecida em cada um dos kits foi pré-revestida com um anticorpo específico para PCR e IL-1 β . As amostras então foram adicionadas aos poços da placa de microtitulação apropriados e depois é adicionado um anticorpo conjugado com biotina específico. Em seguida, a avidina conjugada com peroxidase de rábano é adicionada a cada poço da placa e incubada. Após a adição de substrato TMB, os poços que contém as amostras mudam de cor. A reação enzima-substrato finaliza pela adição da solução de ácido sulfúrico e a mudança de cor é medida espectrofotometricamente em um comprimento de onda de 450nm \pm 10nm. A concentração dos analitos nas amostras é determinada comparando com a curva padrão.

5.5.4 Dosagem de colecistoquinina (CCK)

Para análise de CCK, 2 ml de sangue, coletado via punção da veia jugular com o animal previamente em jejum alimentar de 12 horas, foi depositado em tubos sem adição de anticoagulante e, após 30 minutos para o sangue coagular, foram centrifugadas à rotação de 3.000 rpm por 20 minutos. As amostras de soro foram acondicionadas em tubos tipo *ependorf* e congeladas à temperatura de -20°C para análise posterior. A dosagem de CCK foi realizada em laboratório especializado em análises científicas (LEAC, São Paulo) utilizando a metodologia ELISA (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*), kit ELK6838 CCK Dog, fornecedor *ELK Biotechnology* (Wuhan, China). O ensaio emprega a técnica de imunoensaio de enzimas de inibição competitiva. A placa de microtitulação fornecida no kit foi pré-revestida com um anticorpo específico CCK. As amostras então foram adicionadas aos poços da placa de microtitulação apropriados e depois é adicionado um anticorpo conjugado com biotina específico. Em seguida, a avidina conjugada com peroxidase de rábano é adicionada a cada poço da placa e incubada. Após a adição de substrato TMB, os poços que contém as amostras mudam de cor. A reação enzima-substrato finalizou pela adição da solução de ácido sulfúrico e a mudança de cor é medida

espectrofotometricamente em um comprimento de onda de $450\text{nm} \pm 10\text{nm}$. A concentração de CCK nas amostras é determinada comparando com a curva padrão.

5.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As variáveis foram analisadas descritivamente, para as variáveis quantitativas esta análise foi feita através da observação dos valores mínimos e máximos, e do cálculo de médias, desvios-padrão e mediana. Para as variáveis qualitativas calculou-se frequências absolutas e relativas.

Todas as variáveis foram avaliadas quanto à normalidade dos dados através do teste Shapiro-Wilk. Para a comparação de médias de dois grupos foi utilizado o teste t de Student, quando a suposição de normalidade dos dados foi rejeitada foi utilizado o teste não-paramétrico de Mann-Whitney. Para se testar a homogeneidade entre as proporções foi utilizado o teste exato de Fisher.

Para a comparação dos grupos ao longo das avaliações foi utilizada a Análise de Variância com medidas repetidas. Quando a suposição dos dados foi rejeitada foram utilizados os testes não-paramétricos de Mann-Whitney e Wilcoxon com correção de Bonferroni (foram consideradas significante neste caso as diferenças com $p < 0,0125 (=0,05/4)$).

As análises foram realizadas no software para cálculos SPSS 17.0 for windows. O nível de significância considerado para todos os testes foi de 5%.

6 RESULTADOS

Foram triados 82 animais, sendo que destes, 31 se encaixavam nos critérios de inclusão do estudo e dessa forma, iniciaram o programa de perda de peso. O grupo RS iniciou com 16 animais, porém ao longo do programa oito foram excluídos por motivos de desistência e não conformidade com o protocolo de perda de peso (n=6) e manifestações clínicas de enfermidades a esclarecer (n=2). O grupo MF iniciou com 15 animais, apresentando quatro desistências, por motivos de não aceitação do programa de perda de peso (n=1) e não conformidade com o protocolo de emagrecimento (n=3).

Ao final 19 animais concluíram o estudo e compuseram os dois grupos experimentais da seguinte forma: Grupo RS n=8 e Grupo MF n=11. Os dados descritivos da população que compôs os Grupos RS e MF encontram-se apresentados nas tabelas 3 e 4.

Tabela 3. Dados descritivos dos animais que compuseram o Grupo RS

Animal	Raça	Sexo	Idade (anos)	ECC	Peso inicial (kg)	Condição Sexual
1	SRD	F	8	9	41,5	Castrado
2	SRD	M	9	8	26,6	Castrado
3	Shih Tzu	F	7	9	10,5	Castrado
4	Labrador	F	8	9	35,7	Castrado
5	Labrador	M	8	9	43,3	Castrado
6	Lhasa Apso	F	7	9	12,4	Castrado
7	SRD	M	6	9	40,6	Castrado
8	Whippet	F	9	9	21,2	Castrado

Fonte: PEREIRA, 2022

Legenda: SRD: sem raça definida; ECC: escore de condição corporal; F: fêmea; M: macho

Tabela 4. Dados descritivos dos animais que compuseram o Grupo MF

Animal	Raça	Sexo	Idade (anos)	ECC	Peso inicial (kg)	Condição Sexual
1	Pug	M	5	8	12,3	Castrado
2	SRD	M	5	9	17,3	Castrado
3	SRD	F	8	9	26,4	Castrado
4	SRD	F	12	9	17	Castrado
5	SRD	F	8	8	19,7	Castrado
6	SRD	F	4	8	13,2	Castrado
7	Corgi	M	2	9	23,9	Castrado
8	Labrador	F	5	8	41,5	Castrado
9	Pug	F	10	8	9,3	Castrado
10	Golden Retriever	M	8	9	50,7	Castrado
11	SRD	M	3	9	21,2	Castrado

Fonte: PEREIRA, 2022

Legenda: SRD: sem raça definida; ECC: escore de condição corporal; F: fêmea; M: macho

Na tabela 5 encontram-se caracterizados os valores descritivos das variáveis idade, sexo e raça dos dois grupos que compuseram o estudo.

Tabela 5. Média e desvio padrão das variáveis idade, sexo e raça dos grupos em estudo

Variável	Todos (n=19)	RS (n=8)	MF (n=11)	p
Idade (em anos)				0,188 ^(a)
Média ± DP	6,95 ± 2,48	7,75 ± 1,04	6,36 ± 3,07	
Sexo – n(%)				1,000 ^(b)
Fêmea	11 (57,9)	5 (62,5)	6 (54,6)	
Macho	8 (42,1)	3 (37,5)	5 (45,4)	
Raça – n(%)				0,440 ^(b)
SRD	9 (47,3)	3 (37,5)	6 (54,6)	
Shih-tzu	1 (5,3)	1 (12,5)	0 (0,0)	
Labrador retriever	3 (15,8)	2 (25,0)	1 (9,1)	
Lhasa apso	1 (5,3)	1 (12,5)	0 (0,0)	
Whippet	1 (5,3)	1 (12,5)	0 (0,0)	
Pug	2 (10,4)	0 (0,0)	2 (18,1)	
Welsh corgi	1 (5,3)	0 (0,0)	1 (9,1)	
Golden retriever	1 (5,3)	0 (0,0)	1 (9,1)	

Fonte: PEREIRA, 2022

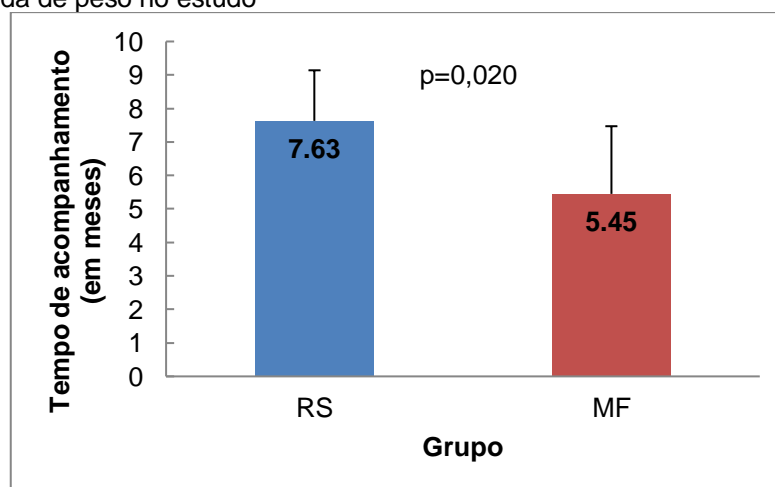
Legenda: RS: Grupo ração hipocalórica seca; MF: Grupo ração hipocalórica seca e úmida (*mix feeding*); DP: Desvio padrão; SRD: sem raça definida

(a) Nível descritivo de probabilidade do teste t de Student

(b) Nível descritivo de probabilidade do teste exato de Fisher

No gráfico 1 está apresentado o tempo de duração do protocolo de emagrecimento em meses.

Gráfico 1. Tempo de acompanhamento, em meses, do protocolo de perda de peso dos grupos de cães submetidos a perda de peso no estudo



Fonte: PEREIRA, 2022

Legenda: RS: ração hipocalórica seca; MF: Grupo ração hipocalórica seca e úmida (*mix feeding*)

Na tabela 6 encontram-se apresentados as variáveis da perda de peso mensuradas no estudo que incluem a TPPS, peso inicial e final, peso meta e perdido, quilocalorias consumidas no momento inicial e final e ECC inicial e final.

Tabela 6. Média e desvio padrão das variáveis de perda de peso analisadas dos grupos em estudo

Variável		Grupo		
		RS	MF	p
TPPS (%)		0,83 ± 0,10	0,98 ± 0,39	0,302 ^(a)
Peso (Kg)	Inicial	28,96 ± 13,23	22,95 ± 12,66	0,355 ^(c)
	Final	22,79 ± 10,51	18,55 ± 10,22	
p ^(b)		0,001		
Peso	Meta (kg)	23,16 ± 10,57	18,42 ± 10,08	0,335 ^(a)
	Perdido (%)	21,57 ± 3,23	18,55 ± 5,60	0,191 ^(a)
	Perdido (kg)	6,18 ± 2,91	4,41 ± 2,70	0,191 ^(a)
NEPP (kcal/dia)	Inicial	724,2 ± 262,9	608,3 ± 244,4	0,489 ^(c)
	Final	655,9 ± 225,5	608,5 ± 266,1	
p ^(b)		0,065		
ECC	Inicial	8,88 ± 0,35	8,55 ± 0,52	0,138 ^(e)
	Final	5,50 ± 0,76	5,27 ± 0,47	0,543 ^(e)
p ^(d)		0,010	0,002	

Fonte: PEREIRA, 2022

Legenda: RS: Grupo ração hipocalórica seca; MF: Grupo ração hipocalórica seca e úmida (*mix feeding*); TPPS: taxa de perda de peso semanal, NEPP: necessidade energética para perda de peso (em kcal por dia).

(a) Nível descritivo de probabilidade do teste t de Student

(b) Nível descritivo de probabilidade da ANOVA com medidas repetidas para a comparação dos momentos nos dois grupos

(c) Nível descritivo de probabilidade da ANOVA com medidas repetidas para a comparação dos grupos nos dois momentos

(d) Nível descritivo de probabilidade do teste não-paramétrico de Wilcoxon

(e) Nível descritivo de probabilidade do teste não-paramétrico de Mann-Whitney

Na tabela 7 é possível observar os valores de média e desvio padrão das variáveis do perfil bioquímico, que foram mensuradas no laboratório do HOVET e compreendem: proteína total, albumina, alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (FA), ureia, creatinina, triglicérides, colesterol, glicose e frutamina, nos dois momentos do estudo.

Tabela 7. Média e desvio padrão das variáveis do perfil bioquímico analisadas dos grupos em estudo

Variável	Valores de Referência ¹	Momento	Grupo		p ^(b)
			RS	MF	
Proteína Total	5,3 - 7,6 g/dL	Inicial	7,39 ± 0,59	7,13 ± 0,56	0,632
		Final	6,68 ± 0,55	6,67 ± 0,97	
p ^(a)			0,003		
Albumina	2,3 - 3,8 g/dL	Inicial	4,06 ± 0,42	3,95 ± 0,37	0,272
		Final	3,90 ± 0,41	3,59 ± 0,54	
p ^(a)			0,007		
ALT *	10 - 88 U/L	Inicial	32,79 ± 8,52	44,11 ± 36,66	0,776
		Final	29,88 ± 27,24	28,98 ± 17,77	
p ^(a)			0,030		
FA *	20 - 150 U/L	Inicial	89,84 ± 62,57	88,94 ± 110,48	0,411
		Final	42,29 ± 30,24	48,88 ± 77,19	
p ^(a)			0,003		
Ureia	20 - 40 mg/dL	Inicial	38,64 ± 5,87	38,95 ± 10,38	0,998
		Final	31,93 ± 5,86	31,60 ± 7,94	
p ^(a)			0,006		
Creatinina	0,7 - 1,4 mg/dL	Inicial	0,97 ± 0,15	0,87 ± 0,15	0,149
		Final	0,95 ± 0,13	0,84 ± 0,16	
p ^(a)			0,326		
Triglicérides*	40 - 169 mg/dL	Inicial	136,19 ± 105,05	284,39 ± 208,58	0,029
		Final	85,48 ± 21,59	123,38 ± 70,91	
p ^(a)			0,012		
Colesterol total	125 - 270 mg/dL	Inicial	223,60 ± 32,29	234,26 ± 49,15	0,434
		Final	177,65 ± 31,39	190,19 ± 32,40	

p ^(a)				0,001		
Glicose	70 - 100 mg/dL	Inicial	86,00 ± 12,17		76,80 ± 6,62	
		Final	68,09 ± 7,38		74,56 ± 7,81	
p ^(a)			0,003		0,410	
Frutosamina	225 - 365 µmol/L	Inicial	344,43 ± 88,70		318,20 ± 32,04	
		Final	306,30 ± 40,42		296,70 ± 60,06	0,394
p ^(a)				0,149		

Fonte: PEREIRA, 2022

¹Kaneko (2008)

(a) Nível descritivo de probabilidade para a comparação dos momentos nos dois grupos

(b) Nível descritivo de probabilidade para a comparação dos grupos nos dois momentos

(*) variável avaliada através da transformação logarítmica

Legenda: RS: ração hipocalórica seca; MF: Grupo ração hipocalórica seca e úmida (*mix feeding*); FA: fosfatase alcalina; ALT: alanina aminotransferase

Para análise de glicose, verificou-se que os grupos apresentam diferença de comportamento ($p=0,004$). O grupo com MF não apresenta alteração da glicose do momento inicial para o momento final ($p=0,410$). O grupo com RS apresenta decréscimo da glicose do momento inicial para o momento final ($p=0,003$).

As variáveis do perfil inflamatório sérico investigadas, que compreendem PCR, IL-1 β , IL-6, IL-10 e TNF- α , no momento inicial e final do estudo estão demonstradas na tabela 8.

Tabela 8. Média e desvio padrão das variáveis do perfil inflamatório analisadas dos grupos em estudo

Variável	Momento	Grupo		p
		RS	MF	
PCR (ng/mL)*	Inicial	0,16 \pm 0,03	1,06 \pm 2,94	
	Final	0,16 \pm 0,02	0,89 \pm 2,37	0,968 ^(b)
Valor de p ^(a)		0,331		
IL-1 β (pg/mL)*	Inicial	27,24 \pm 17,61	28,40 \pm 19,48	
	Final	61,93 \pm 126,83	15,25 \pm 9,79	0,583 ^(b)
Valor de p ^(a)		0,153		
IL-6 (pg/mL)	Inicial	478,76 \pm 510,17	107,19 \pm 181,98	0,078 ^(d)
	Final	390,92 \pm 372,72	49,81 \pm 76,55	0,010 ^(d)
Valor de p ^(c)		0,345	0,859	
IL-10 (pg/mL)	Inicial	23,22 \pm 15,23	105,24 \pm 181,98	0,657 ^(d)
	Final	107,36 \pm 208,07	78,93 \pm 125,40	0,545 ^(d)
p ^(c)		0,866	0,790	
TNF- α (pg/mL)	Inicial	235,02 \pm 273,21	50,55 \pm 88,20	0,180 ^(d)
	Final	213,40 \pm 210,36	27,85 \pm 40,07	0,037 ^(d)
p ^(c)		0,600	0,594	

Fonte: PEREIRA, 2022

Legenda: RS= ração hipocalórica seca; MF= Grupo ração hipocalórica seca e úmida (*mix feeding*); PCR= proteína C reativa; IL-1 β = interleucina 1 beta

(a) Nível descritivo de probabilidade para a comparação dos momentos nos dois grupos

(b) Nível descritivo de probabilidade para a comparação dos grupos nos dois momentos

(c) Nível descritivo de probabilidade do teste não-paramétrico de Wilcoxon

(d) Nível descritivo de probabilidade do teste não-paramétrico de Mann-Whitney

(*) Variável avaliada através da transformação logarítmica

Os resultados do hormônio colecistoquinina no momento inicial e final do estudo estão apresentados na tabela 9.

Tabela 9. Média e desvio padrão da variável colecistoquinina analisada nos grupos estudados

Variável*	Momento	Grupo		p ^(b)
		RS	MF	
CCK (pg/mL)	Inicial	320,55 ± 254,85	364,74 ± 210,35	0,378
	Final	399,90 ± 261,16	335,03 ± 155,87	
p ^(a)		0,899		

Fonte: PEREIRA, 2022

Legenda: RS= ração hipocalórica seca; MF= Grupo ração hipocalórica seca e úmida (*mix feeding*)

(a) Nível descritivo de probabilidade para a comparação dos momentos nos dois grupos

(b) Nível descritivo de probabilidade para a comparação dos grupos nos dois momentos

7 DISCUSSÃO

Todos os animais selecionados no estudo eram castrados, mesmo não sendo este um critério de seleção, o que corrobora com achados na literatura que demonstram que animais castrados tendem a ganhar mais peso que animais inteiros (GERMAN, 2006). Um estudo realizado por Jeusette e colaboradores (2004), demonstrou que a ovariectomia induziu uma redução da necessidade diária de energia e além disso, aumentou o consumo voluntário de alimento em cadelas. Outro estudo realizado por Kawauchi et al. (2017), constatou a redução da necessidade energética diária após vinte e seis semanas da castração, em machos e fêmeas. O estudo também observou aumento de tecido adiposo, embora o peso corporal não tenha se alterado. Porsani et al. (2020), associou o sobrepeso e obesidade com a castração em cadelas em um estudo de prevalência de obesidade na cidade de São Paulo, Brasil.

A idade média do grupo RS foi de 7,75 anos e do grupo MF foi de 6,36 anos, concordando com os achados em literatura que evidenciam que cães de meia idade, 5 a 10 anos, estão mais propensos a ter sobrepeso e obesidade (JERICÓ; SCHEFFER, 2002; LUND et al., 2006; LAFLAMME, 2006), o que parece estar associado à redução do gasto energético resultante da menor atividade física e alteração do metabolismo basal observados para cães em processo de envelhecimento (ROBERTSON, 2003; GERMAN, 2006; LUND et al., 2006).

Já foi documentado que raças como Cocker Spaniel, Labrador Retriever, Dachshund de pelo longo, Rottweiler, Golden Retriever e Boxer são predispostas ao aumento de peso (LUND et al., 2006; DIEZ; NGUYEN, 2006; COURCIER et al., 2010), porém pelas características do presente estudo e seu baixo n amostral não foi possível identificar predisposição racial para o aparecimento da obesidade na população investigada.

Na hipótese dessa pesquisa, era esperado que o grupo com 80% de alimento hipocalórico seco e 20% de alimento hipocalórico úmido, MF, apresentasse um tempo menor de perda de peso em comparação ao grupo com 100% de alimento hipocalórico seco, RS. O estudo confirmou essa hipótese, visto que o grupo MF apresentou um tempo de perda de peso 28,57% menor que o grupo RS. Uma explicação para isso é que o volume de alimento consumido pelo grupo MF é maior em comparação com o grupo RS, o que colabora na maior aderência ao protocolo de perda de peso por parte

do tutor, já que a percepção de um cão satisfeito e que “não passa fome” num programa de perda de peso pode ter um impacto psicológico benéfico nos tutores, garantindo a persistência e adesão ao programa (SERISIER et al., 2014).

Na literatura há poucos estudos sobre a utilização de alimentos úmidos e dos que existem, grande parte são na espécie felina. Em um estudo realizado por Wei et al. (2011), foi avaliado o efeito do conteúdo de água em um alimento enlatado sobre a ingestão energética voluntária e perda de peso em gatos. Foi determinada a ingestão voluntária de energia com um alimento controle seco por dois meses em gatos com peso estável. Após isso, os animais foram divididos em dois grupos, um recebendo alimento enlatado e o outro recebendo o mesmo alimento enlatado, mas que passou por um processo de liofilização para retirada de água. Ao final do estudo, notou-se que a ingestão voluntária de energia foi significativamente menor no grupo de alimento enlatado com alto teor de água e que o peso corporal dos animais de tal grupo diminuiu significativamente. Esses achados são importantes, já que a água é o componente dietético que tem alto impacto na densidade energética por adicionar peso substancial à dieta sem adicionar energia e sem afetar negativamente a palatabilidade do alimento. Em humanos, já foi documentado que o consumo de alimentos ricos em água, ou seja, de baixa densidade calórica, está associado a diminuição da ingestão energética voluntária e conseqüentemente diminuição do peso corporal (ROLLS; DREWNOWSKI; LEDIKWE, 2005).

Na espécie canina, pouco se sabe ainda sobre o efeito da diluição da energia da dieta na regulação da ingestão energética e é possível que alterações na fisiologia digestiva e no comportamento alimentar possam levar a diferenças entre cães e gatos. Um estudo avaliou o efeito da redução da densidade energética através da adição de água em uma ração seca para cães castrados e saudáveis. Durante 28 dias, 46 cães foram alimentados, segundo as necessidades energéticas de manutenção individuais, com uma dieta seca padrão completa e balanceada hidratada até um teor de umidade de 72%. Nos 28 dias seguintes, a mesma dieta seca, hidratada ou não, foi oferecida a 200% da necessidade energética de manutenção individual. Observou-se que quando oferecidas dietas em excesso, o peso corporal aumentou significativamente mais rápido com a dieta hidratada, demonstrando que, nas condições do estudo, os cães compensaram a redução do conteúdo energético da dieta consumindo mais (ALEXANDER; COLYER; MORRIS, 2017).

No nosso estudo, apesar da diferença no tempo de perda de peso, a taxa de perda de peso semanal se comportou da mesma forma entre os grupos. Um estudo clínico prospectivo conduzido por German et al. (2007), avaliou o processo de perda de peso em 19 cães de tutores com obesidade natural. Os animais não possuíam comorbidades, receberam dieta hipocalórica seca ou dieta hipocalórica úmida de acordo com suas respectivas necessidades energéticas de perda de peso e eram reavaliados a cada 7-21 dias. Ao final do estudo foi observado que o tempo médio de duração do programa de perda de peso foi de 144 dias, que resulta em aproximadamente 4,8 meses, com uma TPPS média de 0,85%. Neste estudo de German et al (2007) não foram apresentadas outras variáveis do programa de perda de peso que permitam a comparação com os dados obtidos na presente pesquisa. Entretanto, a taxa de perda de peso semanal foi semelhante à encontrada em nosso estudo, 0,83% para o grupo RS e 0,98% para o grupo MF, corroborando com outros achados que sugerem que a TPPS de 1% a 2%, considerada ideal, é mais difícil de ser alcançada em cães de tutores (BROOKS et al., 2014). Um dos principais motivos para a TPPS abaixo do ideal em cães domiciliados é devido à indisponibilidade dos tutores em cumprir o programa de perda de peso, fornecendo mais calorias do que o estabelecido nas consultas (BRUNETTO, 2010).

Um estudo mais recente, avaliou retrospectivamente registros de cães submetidos a programas de emagrecimento entre maio de 2014 e maio de 2017 de um hospital veterinário de São Paulo, Brasil. Cães com comorbidades capazes de prejudicar ou contribuir com a perda de peso, bem como aqueles que faziam uso de medicamentos com propriedades estimulante de apetite foram excluídos e todos os incluídos faziam uso de dieta hipocalórica seca recomendada por médico veterinário para a perda de peso. Dos 73 cães incluídos no estudo, 64,4% apresentaram TPPS insatisfatória com média de 0,55% e 35,6% apresentaram TPPS satisfatória, com média de 1,27%. O tempo médio entre as avaliações foi de 19,6 dias para o grupo com TPPS satisfatória e 33,7 dias para o grupo TPPS insatisfatório, evidenciando que o tempo entre as avaliações está correlacionado com TPPS (PORSANI et al., 2020). No presente estudo, o intervalo entre as avaliações foi de 30 dias, o que poderia justificar a TPPS estar abaixo do considerado ideal.

Ao analisar a NEPP (kcal/dia) do momento inicial e final do estudo, não observamos diferença entre os grupos, apesar disso, podemos observar pela alteração do valor inicial para o final dos grupos que foram necessários mais reajustes

durante o processo de perda de peso para o grupo RS. Qualquer método de restrição calórica para perda de peso é apenas um ponto de partida e está sujeito ao metabolismo individual do animal e ao comprometimento do tutor. O monitoramento regular é essencial para garantir uma perda de peso saudável e permitir os ajustes necessários na ingestão calórica (BROOKS et al., 2014). Contudo, é possível observar que o grupo MF manteve a ingestão calórica para perda de peso média inicial mais próxima da média final, com 608,27kcal inicial e 608,55kcal/dia final, comprovando que foi necessário menos reajustes durante o processo. Essa menor necessidade de reajustes poderia ser explicada pelo volume maior de alimento consumido, o que poderia resultar em maior saciedade e redução do comportamento de mendicância pelo animal e conseqüentemente maior comprometimento do tutor com o programa, porém não é possível afirmar uma vez que tais parâmetros não foram avaliados de forma objetiva no presente estudo.

Na literatura já é bem documentada a necessidade de reajustes na NEPP durante o processo de emagrecimento. Flanagan et al. (2017) conduziram um estudo de coorte prospectivo de três meses de perda de peso em 926 cães com sobrepeso em 340 clínicas veterinárias de 27 países de 3 regiões globais (Américas, Ásia e Europa). Foi utilizado um software para monitorar a perda de peso e quando a TPPS estava abaixo de 1%, o software sugeria redução de 10% nas calorias diárias consumidas e mesmo com as alterações realizadas, a média da TPPS ao final do estudo foi abaixo de 1%. No estudo já citado anteriormente, Porsani et al. (2020) documentaram também a necessidade de reajustes durante o programa de perda de peso, com objetivo de obter as subseqüentes TPPS dentro do esperado.

A porcentagem de perda de peso média dos grupos reduziu significativamente, assim como o ECC dos animais do estudo, demonstrando que o protocolo de restrição calórica adotado para perda de peso foi efetivo. Um estudo em cães obesos, livres de comorbidades, que avaliou o efeito da perda de peso nos marcadores inflamatórios, obteve redução do ECC médio de 8 para 5 com a perda de peso de 21,8% no período de 6 meses (JEREMIAS et al., 2020). No estudo de German et al. (2007) os cães em sobrepeso submetidos ao emagrecimento perderam em média 18,9% de peso corporal e reduziram a média do ECC de 7 para 5.

No perfil bioquímico, as concentrações séricas de proteína total, albumina, ureia, triglicérides, colesterol e atividade de ALT e FA apresentaram redução após a perda de peso para os dois grupos em estudo. Contudo, dentre as variáveis

mencionadas acima, apenas a albumina, encontrava-se acima do valor de referência antes e após a perda de peso para o RS e antes da perda de peso para o MF e o valor de triglicérides que também estava acima dos valores de referência para a espécie no grupo MF no momento inicial, as outras variáveis estavam dentro da normalidade nos dois momentos.

Em humanos, as alterações bioquímicas que podem ser observadas no início do desenvolvimento da obesidade, incluem mudanças no metabolismo das lipoproteínas e carboidratos, além de disfunção renal, que são critérios associados à “síndrome metabólica” (BLAHA et al., 2008). Entretanto, tais critérios não são estabelecidos em outras espécies, incluindo-se a canina. Tribuddharatana et al. (2011) demonstraram que os valores de colesterol, triglicérides, FA e ALT eram significativamente maiores em cães obesos quando comparados com cães magros, corroborando com os achados do presente estudo. Em outro estudo, os autores também encontraram dados semelhantes, onde o grupo de cães obesos apresentou níveis mais elevados de FA, colesterol, triglicérides, proteína total e albumina e após um programa de perda de peso esses valores séricos reduziram (YAMKA; FRIESEN; FRANTZ, 2006).

Existem mais estudos que relatam alterações em parâmetros da bioquímica sérica de animais obesos, sendo a hiperlipidemia um dos principais achados em cães nesta condição, sendo frequentemente associada à ocorrência de resistência insulínica (BAILHACHE et al., 2003; PIANTEDOSI et al., 2020; VIEIRA et al., 2022). A elevação dos níveis de triglicérides em cães obesos pode estar relacionada a maior massa de gordura corporal, como já documentado em estudo anterior comparando cães obesos e magros (EIRMAN et al., 2009). No presente estudo, a perda de peso resultou em redução dos níveis de triglicérides e colesterol em ambos os grupos, apontando que os sinais de hiperlipidemia podem ser corrigidos através do emagrecimento e menor ingestão de lipídios com a dieta hipocalórica. Este resultado é consistente com outros estudos que também demonstraram a redução destes parâmetros com a perda de peso (DIEZ et al., 2004).

A determinação das proteínas totais séricas compreende as frações de albumina e globulinas. A elevação de albumina pode ser atribuída à desidratação em cães saudáveis e com sobrepeso ou obesidade (RADAKOVICH et al., 2017). Neste estudo, os animais foram submetidos a jejum alimentar de 12h e não havia restrição para ingestão hídrica, ainda assim, os valores de albumina sérica encontravam-se

acima da referência nos dois grupos antes da perda de peso e, após o emagrecimento, houve significativa redução em ambos os grupos, porém ainda mantendo o grupo RS acima dos valores de referência. Apesar de não registrado o estado de hidratação no momento da coleta, acredita-se que devido à maior quantidade de água consumida por meio da alimentação, o grupo MF tenha se mantido mais hidratado.

A ALT é uma enzima considerada hepato-específica, o aumento da sua atividade sérica é um indício de alterações hepáticas, enquanto a FA é considerada um marcador de colestase e seu aumento relacionado à distúrbios que causam acúmulo de bile em parênquima hepático (SILVA, 2015). Um estudo em humanos relatou que o aumento da liberação de ácidos graxos livres para fígado estava relacionado com a esteatose hepática e distúrbios metabólicos da doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) em adolescentes obesos (FABBRINI et al., 2009). As alterações encontradas em humanos com DHGNA incluem elevações discretas nos níveis de enzimas hepáticas e síndrome metabólica (SAELY et al., 2008). Em animais, a esteatose hepática também está relacionada com a liberação de ácidos graxos livres para o fígado e a presença de gordura hepática pode alterar as enzimas ALT e FA (SILVA, 2015). No presente estudo observamos a redução dessas enzimas em ambos os grupos após o emagrecimento, como observado em estudos anteriormente citados, apesar de em todos os momentos de avaliação encontrarem-se dentro da normalidade para a espécie (TRIBUDDHARATANA et al., 2011, YAMKA; FRIESEN; FRANTZ, 2006). Potencialmente, essa redução pode ter ocorrido devido à diminuição do acúmulo de gordura no fígado em decorrência do emagrecimento e menor ingestão deste nutriente.

A mensuração da glicemia de jejum é uma das formas mais frequentes de diagnóstico de diabetes mellitus, pois o estado de hiperglicemia é o principal resultado das alterações decorrentes dessa enfermidade, além de outros achados laboratoriais como hipercolesterolemia e aumento de ALT e FA (DE MARCO et al., 1999). As frutossaminas são proteínas séricas glicadas formadas continuamente, resultantes da ligação entre glicose e proteínas circulantes, refletem os níveis glicêmicos a curto e longo prazo, por isso são amplamente utilizadas na medicina humana e veterinária para diagnóstico, monitoramento e tratamento de diabetes (REUSCH; HABERER, 2001). Alguns estudos descrevem em cães obesos valores aumentados de glicose e frutossamina séricas e, após o emagrecimento, a redução destes (TRIBUDDHARATANA et al., 2011; YAMKA; FRIESEN; FRANTZ, 2006). Isso

acontece pois no estado de obesidade, aumenta a predisposição do quadro de resistência à insulina, caracterizado por defeito na liberação de insulina, resultando na diminuição da supressão da produção hepática de glicose e reduzindo a eficiência da captação de glicose no músculo que, por sua vez, leva ao aumento dos níveis de glicose (KAHN; HULL; UTZSCHNEIDER, 2006). No entanto, no presente estudo, os níveis de glicose apresentaram redução apenas no grupo RS, ficando abaixo do valor de referência. Possível explicação para isso reside na possibilidade de alguns animais do grupo em questão terem ultrapassado as 12 horas de jejum estabelecidas. No grupo MF essa alteração não foi observada, permanecendo dentro dos valores de normalidade nos dois momentos do estudo. A frutossamina permaneceu nos valores de normalidade para cães saudáveis em ambos os grupos e nos dois momentos da avaliação.

A PCR é uma proteína de fase aguda produzida no fígado em resposta aos estímulos de citocinas inflamatórias, sendo considerada um biomarcador preciso de inflamação. Em humanos, sua dosagem é utilizada para diagnóstico de processos inflamatórios e infecções. Estudos relatam relação no aumento dos níveis de PCR na obesidade (PARK; PARK; YU, 2005). Na espécie canina, os resultados obtidos em relação à essa proteína de fase aguda são contraditórios. No estudo de German e colaboradores (2009), foi observado aumento de PCR em animais obesos e após a perda de peso houve redução significativa. Contraditoriamente, no estudo de Tvarijonavičiute e colaboradores (2012), não foram observadas alterações significativas nos valores de PCR de cães obesos após o emagrecimento, enquanto Veiga et al. (2008), documentaram que os valores da PCR foram mais baixos em cães obesos, comparados com cães de peso ideal. No presente estudo, observamos redução numérica na média da PCR no grupo MF após a perda de peso, entretanto, não significativa.

A obesidade é conhecida por ser uma doença inflamatória de baixa intensidade, pois além de armazenar energia, o tecido adiposo sintetiza e libera substâncias metabolicamente ativas denominadas citocinas e, dentre elas, destacam-se a IL-6 e TNF- α (GAYET et al., 2004). A IL-6 e TNF- α têm como papel primário ativar o sistema imunológico em resposta à infecção ou câncer. Entretanto, o aumento da produção dessas citocinas tem sido considerado um fator de risco para diversas doenças em humanos. O aumento da infiltração de macrófagos no tecido adiposo tem sido relatado

em indivíduos obesos e isso explica a maior expressão dessas citocinas durante a expansão do tecido adiposo (KIL; SWANSON, 2010).

Estudos sugerem que o tecido adiposo humano produz elevadas quantidades de IL-6, cerca de 10% a 30% dos teores circulantes e, de acordo com Nonogaki et al. (1995) o impacto metabólico produzido pelo aumento da expressão de IL-6 nos depósitos corporais de gordura, pode ser de crucial importância na patogenia da obesidade. Em cães obesos, German e colaboradores (2009) observaram concentrações plasmáticas aumentadas dessa citocina e após a perda de peso sua diminuição numérica e não significativa. Já em um outro estudo com cães da raça Labrador Retriever, níveis elevados de IL-6 foram associados com o aumento do ECC (FRANK et al., 2015). Brunetto (2010) também encontrou valores mais elevados de IL-6 em cães obesos e que após o emagrecimento reduziram significativamente. No presente estudo, consistente com achados de German e colaboradores (2009), observamos, em ambos os grupos, a redução dessa citocina apenas numericamente após o emagrecimento, entretanto, o grupo MF apresentou valor significativamente menor de IL-6 após o emagrecimento quando comparado com o grupo RS.

O TNF- α é um produto dos macrófagos que está relacionado a distúrbios metabólicos e processos de inflamação crônica. Os primeiros relatos sobre as ações dessa citocina definiam um envolvimento na resistência à insulina, perda de peso corporal e anorexia (GUIMARÃES et al., 2007). No entanto, estudos recentes em humanos apontam uma estreita relação entre TNF- α e obesidade, concluindo que sua expressão está aumentada no ganho de peso e reduz com o emagrecimento, melhorando também a sensibilidade à insulina (FRUHBECK et al., 2001). Em cães, German e colaboradores (2009) verificaram concentrações elevadas dessa citocina em obesos com redução eficaz após a perda de peso. Em um outro estudo, Gayet e colaboradores (2004) também observaram maiores concentrações de TNF- α em cães com obesidade induzida experimentalmente. Em pesquisa mais recente, Jeremias e colaboradores (2020), observaram redução dos valores plasmáticos da TNF- α em cães obesos submetidos ao emagrecimento, porém grande parte das amostras estavam abaixo do nível de detecção possível pela técnica sugerindo que, em cães, os níveis circulantes normais de TNF- α são menores. No presente estudo, essa citocina se comportou de maneira semelhante à IL-6, apresentando redução, porém não significativa, em ambos os grupos estudados.

Os intervalos de referência para citocinas circulantes em cães saudáveis não foram estabelecidos e muitos estudos em cães obesos demonstraram valores de biomarcadores inflamatórios comuns como IL-6 e TNF- α abaixo do limite inferior de detecção (EIRMANN et al., 2009; GERMAN et al., 2009; JEREMIAS et al., 2020). No presente estudo, das 16 amostras de soro avaliadas do grupo RS, três estavam abaixo dos valores de detecção para IL-10, sendo duas antes do emagrecimento e uma após o emagrecimento e para TNF- α três também estavam abaixo dos valores de detecção, sendo duas antes da perda de peso e uma após. Já para o grupo MF, das 22 amostras de soro avaliadas, seis estavam abaixo dos valores de detecção para IL-6, sendo três antes do emagrecimento e três após, nove também estavam abaixo para IL-10, cinco antes do emagrecimento e quatro após e 12 amostras estavam abaixo dos limites de detecção para TNF- α , seis antes e seis após do emagrecimento. Não foi observada diferença do momento inicial para o final nos grupos estudados em nenhuma variável do perfil inflamatório, porém o grupo RS apresentou aumento em todas as variáveis do perfil, com exceção da PCR que se manteve estável, e o grupo MF apresentou redução em todas as variáveis, resultando em diferença estatística entre os grupos no momento final do estudo para IL-6 e TNF- α . Essas alterações observadas entre os grupos podem ser devido ao tempo que os animais estavam obesos, uma vez que não foi possível obter essa informação previamente dos tutores, e, consequentemente, isso pode interferir no aparecimento de anormalidades clínicas e laboratoriais (VIEIRA et al., 2022).

A CCK é um peptídeo encontrado no cérebro e em células endócrinas do intestino que estimula o término da refeição. Junto com o PYY, ela é responsável pelo esvaziamento gástrico, motilidade gastrointestinal e funções biliares (KONTUREK et al., 2004). A liberação de CCK resulta da presença de alimento no intestino, especialmente gordura e peptídeos contendo fenilalanina (BRUNETTO et al., 2020). Não foram encontrados dados recentes para cães a respeito desse peptídeo, contudo, estudos prévios observaram que os valores plasmáticos pós-prandiais de CCK parecem não ser suficientes para produzir saciedade em cães (REIDELBERGER; KALOGERIS; SOLOMON, 1989). No estudo atual, não observamos diferença entre os grupos e nem entre os momentos estudados, porém o grupo RS apresentou valores plasmáticos de CCK que numericamente aumentaram enquanto no grupo MF reduziram. Uma limitação dessa análise é o fato de que as coletas foram realizadas apenas com os animais em jejum e como já citado anteriormente, a CCK é liberada

após a alimentação, por isso, para melhor compreensão dos resultados, seria necessário também a coleta pós-prandial.

8 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

O estudo teve início em março/2020 e no mesmo mês também se iniciou a pandemia do Covid-19 causando diversas intercorrências no projeto. Como tratava-se de um estudo com acompanhamento mensal, a pandemia dificultou a logística dos retornos, pois houve paralisação dos serviços do HOVET e a recomendação da OMS era que todos permanecessem em casa, por essa razão, durante o período que o HOVET se manteve fechado, foi necessário realizar os retornos de forma remota.

A necessidade de se ficar em casa foi o motivo de algumas desistências por parte dos tutores, que alegavam a não possibilidade de cumprimento do protocolo já que todos os familiares estavam presentes e não era possível fazer o manejo recomendado. Por fim, a ocorrência de uma pandemia de tal magnitude e que teve diversas fases pode ter, de alguma forma, afetado os resultados do projeto, porém não foi possível mensurar.

Por se tratar de estudo clínico a execução correta do programa de perda de peso depende fortemente da adesão e comprometimento dos responsáveis pelos animais. Dessa forma, apesar dos constantes incentivos e contatos para manutenção e estímulo dos mesmos a manter a conformidade com o prescrito, não é possível garantir a adesão na totalidade e ao longo de todo o estudo.

Outra limitação a destacar refere-se a dificuldade de controle e padronização da atividade física que foi agravada pela pandemia enfrentada.

Maior foco aos mecanismos de saciedade foram dados neste estudo com realização das análises dos hormônios PYY, GLP-1, grelina, leptina e amilina que devido a dificuldades de importação do laboratório terceiro, não se encontram disponíveis para inclusão na versão final da dissertação.

Igualmente foi realizada a determinação da composição corporal de todos os animais pela técnica de diluição de isótopos de deutério que devido à quebra do único equipamento disponível no país para realização dessa análise, também não foi possível incluir na dissertação.

9 CONCLUSÃO

Nas condições do presente estudo é possível concluir que:

- Os alimentos empregados, bem como o protocolo de perda de peso instituído foram eficazes na redução de peso em ambos os grupos avaliados;
- O manejo alimentar *mix feeding* resultou em menor tempo de duração do programa de perda de peso em cães obesos castrados domiciliados e sem comorbidades.

10 REFERÊNCIAS

AHIMA, R., PRABAKARAN, D., MANTZOROS, C., QU, D., LOWELL, B., MARATOS-FLIER, E., FLIER, J. S. Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. **Nature**, v. 382, p. 250–252, 1996.

ALEXANDER, J. E., COLYER, A., MORRIS, P. J. The effect of reducing energy density, via the addition of water to dry diet, on body weight and activity in dogs. **Journal of nutritional Science**, vol. 6, e. 42, p. 1-4, 2017.

ALONSO, J. A., BAUTISTA-CASTAÑO, I.; PEÑA, C., SUÁREZ, L.; JUSTE, M. C., TVARIJONAVICIUTE, A. Prevalence of canine obesity, obesity-related metabolic dysfunction, and relationship with owner obesity in an obesogenic region of Spain. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 4, p. 2–5, 2017.

BAILHACHE, E., NGUYEN, P., KREMPF, M., SILIART, B., MAGOT, T., & OUGUERRAM, K. Lipoproteins abnormalities in obese insulin-resistant dogs. **Metabolism**, v. 52, n. 5, 559-564, 2003.

BLAHA, M. J., BANSAL, S., ROUF R., GOLDEN S.H., BLUMENTHAL R.S., DEFILIPPIS A.P. A practical "ABCDE" approach to the metabolic syndrome. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 83, n. 8, p. 932-941, 2008.

BLAND, I.M., GUTHRIE-JONES, A., TAYLOR, R.D., HILL, J. Dog obesity: veterinary practices' and owners' opinions on cause and management. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 94, n. 3-4, p. 310-315, 2010.

BOSCH, G., VERBRUGGHE, A., HESTA, M., HOLST, J. J., POEL, A. F. B. VAN DER, JANSSENS, G. P. J., HENDRIKS, W. H. The effects of dietary fibre type on satiety-related hormones and voluntary food intake in dogs. **British Journal of Nutrition**, v. 102, p. 318–325, 2009.

BOUCHER, J., CASTAN-LAURELL I, DAVIAUD D, GUIGNÉ C, BULÉON M, CARPÉNÉ C, SAULNIER-BLACHE JS, VALET P., Adipokine expression profile in adipocytes of different mouse models of obesity. **Hormone and Metabolic Research**, v. 37, n. 12, p. 761-767, 2005. Disponível em: <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/html/10.1055/s-2005-921098>.

BROOKS, D., CHURCHILL, J., FEIN, K., LINDER, D., MICHEL, K. E., TUDOR, K., WARD, E., WITZEL, A. AAHA weight management guidelines for dogs and cats. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 50, n. 1, p. 1–11, 2014.

BUCKLEY, C. M., HAWTHORNE, A., COLYER, A., STEVENSON, A. E. Effect of dietary water intake on urinary output, specific gravity and relative supersaturation for calcium oxalate and struvite in the cat. **British Journal Nutrition**, v. 106, n. 1, p. 128-130, 2011.

BURKHOLDER, W.J. Precision and practicality of methods assessing body composition of dogs and cats. **Compendium on continuing education for the**

practicing veterinarian, v. 23, p. 1–10, 2001.

BURTON-FREEMAN, B., Dietary Fiber and Energy Regulation, **The Journal of Nutrition**, v. 130, n. 2, p. 272-275, 2000.

BRUNETTO, Márcio Antonio. Perda de peso, indicadores do metabolismo de carboidratos e produção de citocinas em cães. 2010. xii, 81 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2010. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/101229>>.

CARCIOFI, A. C., VENTURELLI, K. N., VASCONCELLOS, R. S., BAZOLLI, R. S., BRUNETTO, M. A., PRADA, F. A weight loss protocol and owners participation in the treatment of canine obesity. **Ciência Rural**, v. 35, n. 6, p. 1331-1338, 2005 disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0103-84782005000600016>>

CARCIOFI, A.C., TAKAKURA, F.S., DE-OLIVEIRA, L.D., TESHIMA, E., JEREMIAS, J.T., BRUNETTO, M.A., PRADA F. 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.

CASE, L.P.; CAREY, D.P.; HIRAKAWA, D.A. **Nutrição canina e felina** – Manual para profissionais. Madri: Harcourt Brace de España, 1998. 424p.

CHANDLER, M. New thoughts about obesity. **Companion Animal**, v. 23, n. 12, p. 686-695, 2018.

COURCIER, E.A.; THOMSON, R.M.; MELLOR, D.J.; YAM, P.S. An epidemiological study of environmental factor associated with canine obesity. **Journal of Small Animal Practice**, v.51, p. 362-367, 2010.

DATE, Y., KOJIMA, M., HOSODA, H., SAWAGUCHI, A., MONDAL, M.S., SUGANUMA, T., MATSUKURA, S., KANGAWA, K., NAKAZATO, M. Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. **Endocrinology**, v. 141, n. 11, p. 4255-4261, 2000.

DE MARCO, V., DO AMARAL, R. C., JERICÓ, M. M., SILVA, R. D., & SIMÕES, D. M. Diagnóstico de Diabetes mellitus na espécie canina e avaliação a longo prazo da terapia insulínica através das concentrações séricas de hemoglobina glicosilada. **Revista de Educação Continuada Em Medicina Veterinária e Zootecnia Do CRMV-SP**, v. 2, n. 2, p. 23-28, 1999.

DIEZ, M., NGUYEN, P. The epidemiology of canine and feline obesity. **Waltham Focus Dog and cat obesity**, v.1, p. 2-8, 2006.

DIEZ, M., MICHAUX, C., JEUSETTE, I., BALDWIN, P., ISTASSE, L., BIOURGE, V. Evolution of blood parameters during weight loss in experimental obese Beagle dogs. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, v. 88, n. 3-4, p. 166-171, 2004.

DINARELLO, C. A., DONATH, M. Y., MANDRUP-POULSEN, T.. Role of IL-1 β in type 2 diabetes. **Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity**, v. 17, n. 4, p. 314-321, 2010.

EIRMANN L.A., FLEEMAN L.M., LAFLAMME D.P., MICHEL K.E. & SATYARAJ E. Comparison of adipokine concentrations and markers of inflammation in obese versus lean dogs. **J. Appl. Res. Vet. Med.** v. 7, n. 4, p. 196-205, 2009.

FABBRINI, E., DEHASETH, D., DEIVANAYAGAM, S., MOHAMMED, B. S., VITOLA, B. E., & KLEIN, S. Alterations in fatty acid kinetics in obese adolescents with increased intrahepatic triglyceride content. **Obesity**, v. 17, n. 1, p. 25-29, 2009.

FEDIAF - The European Pet Food Industry Federation. Nutritional guidelines for complete and complementary pet food for cats and dogs. **The european Pet Food Industry Federation**, Bruxelles, 2018.

FERRIER, L., ROBERT, P., DUMON, H., MARTIN, L., NGUYEN, P. Evaluation of body composition in dogs by isotopic dilution using a low-cost technique, fourier-transform infrared spectroscopy. **Journal of Nutrition**, v. 132, n. 6, p. 1725–1727, 2002.

FLANAGAN, J., BISSOT, T., HOURS, M. A., MORENO, B., FEUGIER, A., & GERMAN, A. J. Success of a weight loss plan for overweight dogs: The results of an international weight loss study. **PloS one**, v. 12, n. 9, 2017.

FLANAGAN, J, FEUGIER A, VIALLE S. A means for differentiation of the degree of satiety of low-energy, high-fiber weight products in cats. USA. *In*: 17th Annual AAVN Clinical Nutrition and Research Symposium; National Harbor (USA); 2017.

FRANK, L., MANN, S., LEVINE, C. B., CUMMINGS, B. P., WAKSHLAG, J. J. Increasing body condition score is positively associated interleukin-6 and monocyte chemoattractant protein-1 in Labrador retrievers. **Veterinary immunology and immunopathology**, v. 167, n. 3-4, p. 104-109, 2015.

FREEMAN, L. M., ABOOD, S. K., FASCETTI, A. J., FLEEMAN, L. M., MICHEL, K. E., LAFLAMME, D. P., BAUER, C., KEMP, B. L. E., VAN DOREN, J. R., WILLOUGHBY, K. N. Disease prevalence among dogs and cats in the United States and Australia and proportions of dogs and cats that receive therapeutic diets or dietary supplements. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 229, n. 4, p. 531–534, 2006.

FRUHBECK, G., GÓMEZ-AMBROSI, J., MURUZÁBAL, F. J., BURRELL, M. A. The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 280, n. 6, p. E827-E847, 2001.

GAYET, C., BAILHACHE, E., DUMON, H., MARTIN, L., SILIART, B., NGUYEN, P. Insulin resistance and changes in plasma concentration of TNF α , IGF1, and NEFA in dogs during weight gain and obesity. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 88, n. 3-4, p. 157-165, 2004.

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

GERMAN, A.J., HOLDEN, S.L., BISSOT, T., HACKETT, R.M., BIOURGE, V. Dietary energy restriction and successful weight loss in obese client-owned dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 21, n. 6, p. 1174-80, 2007.

GERMAN, A. J., HOLDEN, S. L., MORRIS, P. J., BIOURGE, V. Comparison of a bioimpedance monitor with dual-energy x-ray absorptiometry for noninvasive estimation of percentage body fat in dogs, **American Journal of Veterinary Research**, v.71, n.4, p. 393-398 2010b.

GERMAN, A.J., HOLDEN, S.L., BISSOT, T., MORRIS, P.J., BIOURGE, V. A high protein high fibre diet improves weight loss in obese dogs. **The Veterinary Journal**, v.183, n.3, p.294-297 2010c.

GERMAN, A. J., RYAN, V. H., GERMAN, A. C., WOOD, I. S., & TRAYHURN, P. Obesity, its associated disorders and the role of inflammatory adipokines in companion animals. **Veterinary Journal**, v.185 n.1, p. 4–9 2010a.

GERMAN, A. J. The Growing Problem of Obesity in Dogs and Cats, **The Journal of Nutrition**, v.136, n. 7, 1, p. 1940–1946, 2006.

GERMAN, A.J., MELLERSH, C.S., ARENDT, M.L., IYEMERE, V.P., WITHERS, E., SÖDER, J., WERNERSSON, S., ANDERSSON, G., LINDBLAD-TOH, K., YEO, G.S., O'RAHILLY, S. A Deletion in the Canine POMC Gene Is Associated with Weight and Appetite in Obesity-Prone Labrador Retriever Dogs. **Cell Metabolism**, 2016 v. 23, n. 5, p. 893-900, 2016.

GRANT, Ryan W.; DIXIT, Vishwa Deep. Adipose tissue as an immunological organ. **Obesity**, v. 23, n. 3, p. 512-518, 2015.

GUIMARÃES, D. E. D., SARDINHA, F. L. D. C., MIZURINI, D. D. M., CARMO, M. D. G. T. D. Adipocitocinas: uma nova visão do tecido adiposo. **Revista de Nutrição**, v. 20, p. 549-559, 2007.

HADARI, M., JAVADI, E., SADEGH, I. B., HAJILOOI, M., GHANBILI, J. Evaluation of C-reactive protein, a sensitive marker of inflammation, as a risk factor for stable coronary artery disease. **Clinical Biochemistry**, v. 34, n. 4, p. 309-315, 2001.

HERMSDORFF, H.H.M, MONTEIRO, J.B.R. Gordura visceral, subcutânea ou intramuscular: onde está o problema? **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabologia**, v. 48, n.6, 2004.

HILLSTRÖM, A., SÖDER, J., WERNERSSON, S., HAGMAN, R. Serum concentrations of C-reactive protein (CRP) in lean and overweight dogs. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 57, O15, 2015.

ISHIOKA, K., HATAI, H., KOMABAYASHI, K., SOLIMAN, M.M., SHIBATA, H., HONJOH, T., KIMURA, K., SAITO, M. Diurnal variations of serum leptin in dogs: effects of fasting and re-feeding. **The Veterinary Journal**, v. 169, n. 1, p. 85-90 2005.

JEREMIAS, J. T., VENDRAMINI, T. H., RODRIGUES, R., PERINI, M. P., PEDRINELLI, V., TEIXEIRA, F. A., BRUNETTO, M. A., PONTIERI, C. F. Markers of inflammation and insulin resistance in dogs before and after weight loss versus lean healthy dogs. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 40, p. 300-305, 2020.

JERICÓ, M.M., SCHEFFER, C.K. Aspectos epidemiológicos dos cães obesos na cidade de São Paulo. **Revista Clínica Veterinária**, n. 37, p. 25-29, 2002, disponível em: <https://www.revistaclinicaveterinaria.com.br/Edicao/Amostra?ie=37,1>

JEUSETTE, I., DETILLEUX, J., CUVELIER, C., ISTASSE, L., DIEZ, M. Ad libitum feeding following ovariectomy in female Beagle dogs: effect on maintenance energy requirement and on blood metabolites. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition** (Berlim), v. 88, n.3-4, p. 117-121, 2004.

JUGE-AUBRY, C. E., SOMM, E., PERNIN, A., ALIZADEH, N., GIUSTI, V., DAYER, J. M., & MEIER, C. A. Adipose tissue is a regulated source of interleukin-10. **Cytokine**, v. 29, n. 6, p. 270-274, 2005.

KAHN, S. E., HULL, R. L., UTZSCHNEIDER, K. M. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. **Nature**, v. 444, n. 7121, p. 840-846, 2006.

KANEKO, J.J., HARVEY, J. W., BRUSS, M. L. (Ed.). **Clinical biochemistry of domestic animals**. Academic press, 928p, 2008.

KAWAUCHI, I. M., JEREMIAS, J. T., TAKEARA, P., DE SOUZA, D. F., BALIEIRO, J., PFRIMER, K., BRUNETTO, M. A., PONTIERI, C. Effect of dietary protein intake on the body composition and metabolic parameters of neutered dogs. **Journal of nutritional science**, v. 6, e. 40, p. 1-5, 2017.

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

KIL, D. Y., SWANSON, K. S. Endocrinology of obesity. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice**, v. 40, n. 2, p. 205-219, 2010.

KIM, S., MOUSSA, N. M. Secretory, Endocrine and Autocrine/Paracrine Function of the Adipocyte, **The Journal of Nutrition**, v.130, n.12, p. 3110–3115 2000.

KONTUREK, S.J., KONTUREK, J.W., PAWLIK, T., BRZOSOWSKI, T. Brain-gut axis and its role in the control of food intake. **Journal of Physiology and Pharmacology** v. 55, n. 1, p.137-134, 2004.

LAFLAMME, D. P.; Development and validation of a body condition score system for dogs. **Canine practice**, v. 22, n. 4, p. 10-15,1997.

LAFLAMME, D. P. Obesity in dogs and cats: What is wrong with being fat? **Journal of Animal Science**, v. 90, n. 5, p. 1653–1662, 2012.

LAFLAMME, D. P. Understanding and Managing Obesity in Dogs and Cats. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v.36, n.6, p. 1283–1295, 2006.

LEIDY, H.J., GARDNER, J.K., FRYE, B.R., SNOOK, M.L., SCHUCHERT, M.K., RICHARD, E.L. Circulating ghrelin is sensitive to changes in body weight during a diet and exercise program in normal weight young women. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 89, n. 6, p.2659-2664, 2004.

LUND, E., ARMSTRONG, J., KIRK, C., KLAUSNER, J. USA: Prevalence and risk factors for obesity in dogs from private veterinary clinics in the USA. **International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine**, v. 4, n. 2, 2006.

MACHADO, F. L. A., JERICÓ, M.M. Obesidade. *In*; JERICÓ, M.M., KOGIKA, M.M., NETO, J.P.A **Tratado de medicina interna de cães e gatos**, 1ª ed. Rio de Janeiro: Roca 2015; vol. 2, cap. 197, p. 1794-1807

MARQUES-LOPES, I., MARTI, A., MORENO-ALIAGA, M. J., & MARTÍNEZ, A. Aspectos genéticos da obesidade. **Revista de Nutricao**, v.17, n.3, p.327–338, 2004.

MAWBY, D. I., BARTGES, J. W., D'AVIGNON, A., LAFLAMME, D. P., MOYERS, T. D., & COTTRELL, T. (2004). Comparison of various methods for estimating body fat in dogs. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 40, n. 2, p. 109–114, 2004.

MCGREEVY, P. D., THOMSON, P. C., PRIDE, C., FAWCETT, A., GRASSI, T., JONES, B. Prevalence of obesity in dogs examined by Australian veterinary practices and the risk factors involved. **Veterinary Record**, v.156, n. 22, p. 695–702, 2005.

MISHRA, A.K., DUBEY, V., GHOSH, A.R. Obesity: An overview of possible role(s) of gut hormones, lipid sensing and gut microbiota. **Metabolism clinical and experimental** v. 65, n. 1, p.48-65, 2016.

MORTON, G.J., CUMMINGS, D.E., BASKIN, D.G, BARSH, G.S., SCHWARTZ, M.W. Central nervous system control of food intake and body weight. **Nature**, v. 443, p. 289-95, 2006.

MOSCHEN, A. R., MOLNAR, C., ENRICH, B., GEIGER, S., EBENBICHLER, C. F., TILG, H. Adipose and liver expression of interleukin (IL)-1 family members in morbid obesity and effects of weight loss. **Molecular medicine**, v. 17, n. 7, p. 840-845, 2011.

NEGRÃO, A.B., LICINIO, J. Leptina: o diálogo entre adipócitos e neurônios. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v. 44, n. 3, p. 205-14, 2000.

NONOGAKI, K., FULLER, G. M., FUENTES, N. L., MOSER, A. H., STAPRANS, I. L. O. N. A., GRUNFELD, C. A. R. L., FEINGOLD, K. R. Interleukin-6 stimulates hepatic triglyceride secretion in rats. **Endocrinology**, v. 136, n. 5, p. 2143-2149, 1995.

NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL - **Nutrient requirements of dogs**. Washington: National Academy Press, 2006, 398p.

OMS - Organização Mundial a Saúde. **Obesity and overweight**. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>>. Acesso em 09/08/2021

PARK, H. S., PARK, J. Y.; YU, R. Relationship of obesity and visceral adiposity with serum concentrations of CRP, TNF- α and IL-6. **Diabetes research and clinical practice**, v. 69, n. 1, p. 29-35, 2005.

PIANTEDOSI, D., PALATUCCI, A.T., GIOVAZZINO, A., RUGGIERO, G., RUBINO, V., MUSCO, N., CARRIERO, F., FARINA, F., ATTIA, Y.A.E.W., TERRAZZANO, G., LOMBARDI, P., CORTESE, L. Effect of a Weight Loss Program on Biochemical and Immunological Profile, Serum Leptin Levels, and Cardiovascular Parameters in Obese Dogs. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 7, n. 398, p 1-17, 2020.

PORSANI, M., TEIXEIRA, F.A., AMARAL, A.R., PEDRINELLI, V., VASQUES, V., DE OLIVEIRA A.G., VENDRAMINI, T.H.A., BRUNETTO, M.A. Factors associated with failure of dog's weight loss programmes. **Veterinary Medicine and Science**, v. 6, n. 3, p. 299– 305, 2020.

PORSANI, M., TEIXEIRA, F. A., OLIVEIRA, V. V., PEDRINELLI, V., DIAS, R. A., GERMAN, A. J., & BRUNETTO, M. A. Prevalence of canine obesity in the city of São Paulo, Brazil. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, 2020.

RADIN, M.J., SHARKEY, L.C., HOLYCROSS, B.J. Adipokines: a review of biological and analytical principles and an update in dogs, cats, and horses. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 38, n. 2, p. 136-56, 2009.

RAFFAN, E., DENNIS, R. J., O'DONOVAN C. J., BECKER, J. M., SCOTT, R. A., SMITH, S. P., WITHERS, D. J., WOOD, C. J., CONCI, E., CLEMENTS, D. N., SUMMERS, K. M., RADAKOVICH, L. B., TRUELOVE, M. P., PANNONE, S. C., OLVER, C. S., & SANTANGELO, K. S. Clinically healthy overweight and obese dogs differ from lean controls in select CBC and serum biochemistry values. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 46, n. 2, p. 221–226, 2017.

REIDELBERGER, R. D., ARNELO, U., GRANQVIST, L., PERMERT, J. Comparative effects of amylin and cholecystokinin on food intake and gastric emptying in rats. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 280, n. 3, p. 605-11, 2001.

REIDELBERGER, ROGER D.; KALOGERIS, THEODORE J.; SOLOMON, TRAVIS E. Plasma CCK levels after food intake and infusion of CCK analogues that inhibit feeding in dogs. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 256, n. 5, p. R1148-R1154, 1989.

REUSCH, C. E., HABERER, B. Evaluation of fructosamine in dogs and cats with hypo- or hyperproteinaemia, azotemia, hyperlipidaemia and hyperbilirubinaemia. **Veterinary Record**, v. 148, n. 12, p. 370-376, 2001.

REXRODE, K.M., PRADHAN, A., MANSON, J.E., BURING, J.E., RIDKER, P.M. Relationship of total and abdominal adiposity with CRP and IL-6 in women. *Annals of Epidemiology*, n. 10, p. 674-682, 2003.

ROBERTSON, I.D. The association of exercise, diet and other factors with owner-perceived obesity in privately owned dogs from metropolitan Perth, WA. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 58, n.1-2, p. 75-83, 2003.

RODRIGUES, A. M., SUPLICY, H. L., RADOMINSKI, R. B. Controle neuroendócrino do peso corporal: implicações na gênese da obesidade. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia** [online], v. 47, n. 4, p.398-409, 2003. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0004-27302003000400012>>

ROLLS, B. J., DREWNOWSKI, A., LEDIKWE, J. H. Changing the energy density of the diet as a strategy for weight management. **Journal of American Dietetic Association**, v. 105, n. 5, p. 98-103, 2005.

ROMERO, C. E. M.; ZANESCO, A. O papel dos hormônios leptina e grelina na gênese da obesidade. **Revista de Nutrição** [online] v. 19, n. 1, pp. 85-91, 2006. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1415-52732006000100009>>

ROSNER, B. - **Fundamentals of Biostatistics** - Boston, PWS Publishers, Second edition, 1986, 584p

SAELY, C. H., VONBANK, A., REIN, P., WOESS, M., BEER, S., ACZEL, S., ... & DREXEL, H. Alanine aminotransferase and gamma-glutamyl transferase are associated with the metabolic syndrome but not with angiographically determined coronary atherosclerosis. **Clinica Chimica Acta**, v. 397, n. 1-2, p. 82-86, 2008.

SANTANNA, S.; CAIADO, N.M.; DA SILVA, L. J. Neuromodulação Hipotalâmica: uma proposta terapêutica para obesidade. **Revista de Medicina e Saúde de Brasília**, v. 3, n. 2, p. 192-204, 2014.

SCHWARTZ, M., SEELEY, R.J. The new biology of body weight regulation. **Journal of the American Dietetic Association** v. 97, n. 1, p. 54-58, 1997.

SCHWARTZ, M., WOODS, S., PORTE, D., SEELEY R.J., BASKIN, D.G. Central nervous system control of food intake. **Nature**, v. 404, p. 661–671, 2000.

SERISIER, S., PIZZAGALLI, A., LECLERC, L., FEUGIER, A., NGUYEN, P., BIOURGE, V., GERMAN, A. J. Increasing volume of food by incorporating air reduces energy intake. **Journal of nutritional science**, vol. 3, e. 59, p. 1-5, 2014.

SILVA, R. D. Sistema hepatobiliar. In; JERICÓ, M.M., KOGIKA, M.M., NETO, J.P.A **Tratado de medicina interna de cães e gatos**, 1ª ed. Rio de Janeiro: Roca 2015; vol. 2, cap. 197, p. 3119-3152

TIMM, N.H. - *Multivariate Analysis with Applications in Educations and Psychology* - Monterrey, CA Brooks/Cole, 1975, 687p

TRAYHURN, P. Adipose tissue in obesity - An inflammatory issue. **Endocrinology**, v. 146, n. 3, p. 1003–1005, 2005.

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

TVARIJONAVICIUTE, A., TECLES, F., MARTÍNEZ-SUBIELA, S., CERÓN, J. J. Effect of weight loss on inflammatory biomarkers in obese dogs. **The veterinary journal**, v. 193, n. 2, p. 570-572, 2012.

VAN DE VELDE, H., JANSSENS, G. P. J., DE ROOSTER, H., POLIS, I., PETERS, I., DUCATELLE, R., HESTA, M. The cat as a model for human obesity: insights into depot-specific inflammation associated with feline obesity. **British journal of nutrition**, v. 110, n. 7, p. 1326-1335, 2013.

VASCONCELLOS, R. S., BORGES, N. C., GONÇALVES, K. N. V, PAULA, F. J. A. DE, MALHEIROS, E. B., BRUNETTO, M. A., CARCIOFI, A. C. Protein Intake during Weight Loss Influences the Energy Required for Weight Loss and Maintenance in Cats. **The journal of Nutrition**, v. 139, n. 5, p. 855–860, 2009.

VIEIRA, A.B., RESTREPO, M.A., AUZENNE, D., MOLINA, K., O'SULLIVAN, M., MACHADO, M.V., CAVANAUGH, S.M. Mild to moderate overweight in dogs: is there an impact on routine hematological and biochemical profiles, echocardiographic parameters and cardiac autonomic modulation? **Veterinary Research Communications**, v. 46, n. 2, p. 527-535, 2022.

VEIGA, A. P. M., PRICE, C. A., OLIVEIRA, S. T., SANTOS, A. P., CAMPOS, R., BARBOSA, P. R., GONZÁLEZ, F. H. Association of canine obesity with reduced serum levels of C-reactive protein. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 20, n. 2, p.224-228, 2008.

WEBER, M., BISSOT, T., SERVET, E., SERGHERAERT, R., BIOURGE, V., GERMAN, A.J., 2007. A high protein, high fiber diet designed for weight loss improves satiety in dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 21, p. 1203–1208 2007.

WEI, A., FASCETTI, A.J., VILLAVERDE, C., WONG, R.K., RAMSEY, J.J. Effect of water content in a canned food on voluntary food intake and body weight in cats. **American Journal of Veterinary Research**, v. 72, n.7, p. 918-23, 2011.

WHITE, G. A., COBB, K., CRAIGON, J., HAMMOND, R., MILLAR, K. M., MEDICINE, V., & CAMPUS, S. B. Canine obesity : is there a difference between veterinarian and owner perception ? **Journal of Small Animal Practice**, v. 52, n. 12, p. 522-626, 2011.

WYNNE, K., STANLEY, S., MCGOWAN, B., BLOOM, S. Appetite control. **Journal of**

Endocrinology, v. 184, n. 2, p. 291-318, 2005.

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

ZHANG, Y., PROENCA, R., MAFFEI, M., BARONE, M., LEOPOLD, L., & FRIEDMAN, J. M. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. **Nature**, v. 372, p. 425-32, 1994.

ZORAN, D. L. Obesity in Dogs and Cats: A Metabolic and Endocrine Disorder. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v. 40, n. 2, p. 221–239, 2010.