

FABRICIA MODOLO GIRARDI

**VALORES SANGUÍNEOS DE LEPTINA, GLICOSE, INSULINA E
PROTEÍNAS GLICADAS E DE FASE AGUDA, EM EQUINOS COM
SOBREPESO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2017

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

G521v
2017

Girardi, Fabricia Modolo, 1984-

Valores sanguíneos de leptina, glicose, insulina e proteínas glicadas e de fase aguda, em equinos com sobrepeso / Fabricia Modolo Girardi. – Viçosa, MG, 2017.

ix, 61f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexos.

Orientador: José Dantas Ribeiro Filho.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f.45-56.

1. Equino - Obesidade. 2. Inflamação. 3. Glicoproteínas.

I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Veterinária.
Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária. II. Título.

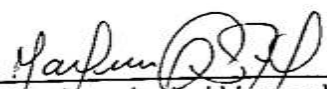
CDD 22 ed. 636.1

FABRICIA MODOLO GIRARDI

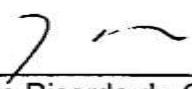
**VALORES SANGUÍNEOS DE LEPTINA, GLICOSE, INSULINA E
PROTEÍNAS GLICADAS E DE FASE AGUDA, EM EQUINOS COM
SOBREPESO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Conhecimento, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

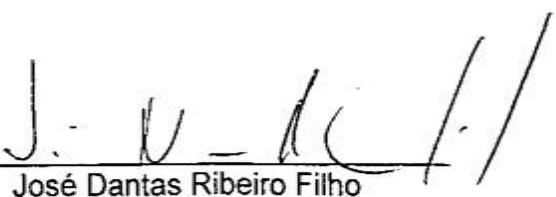
APROVADA: 09 de maio de 2017.



Marlene Isabel Vargas Vilorio



Paulo Ricardo de Oliveira Paes



José Dantas Ribeiro Filho
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

Sou grata pela força da fé que minha família me deu para ultrapassar os momentos difíceis.

Ao Professor José Dantas Ribeiro Filho pela paciência e orientação.

À Professora Marlene Isabel Vargas Vilorio e ao Professor Paulo Ricardo de Oliveira Paes, por aceitarem contribuir para esse trabalho sendo membros da banca de defesa.

Ao Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária e ao Departamento de Veterinária, por permitir e disponibilizar toda a estrutura para minha formação acadêmica.

À FAPEMIG pela concessão de bolsa de estudos durante o curso.

Aos meus amigos e todas as pessoas que me ajudaram no trabalho e por incentivarem a não desistir.

Aos professores que transmitiram em suas aulas seus conhecimentos e que me iluminaram com novas ideias.

Aos autores dos livros e artigos que sendo citados ou não, me direcionaram na pesquisa e na escrita dessa dissertação.

Agradeço imensamente ao meu marido Leandro Abreu da Fonseca que segurou minha mão e me trouxe até aqui.

SUMÁRIO

	Pág.
LISTA DE TABELAS.....	iv
LISTA DE QUADROS.....	iv
LISTA DE FIGURAS.....	v
LISTA DE ABREVIATURAS.....	vi
RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	ix
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	02
2.1. Sobrepeso em equinos.....	02
2.2. Tecido adiposo e inflamação.....	04
2.3. Sobrepeso, leptina e metabolismo energético.....	11
2.4. Adipocinas e Proteínas de fase aguda.....	16
2.5. Resposta de Fase Aguda.....	17
2.5.1. Classificação baseada na concentração plasmática.....	19
2.5.2. Classificação baseada no modo de ação.....	20
2.5.3. Classificação baseada no mecanismo de síntese.....	20
2.5.4. Proteínas de fase aguda negativas.....	21
2.5.5. Proteínas de fase aguda positivas.....	22
3. OBJETIVOS.....	26
3.1. Objetivo geral.....	26
3.2. Objetivos específicos.....	26
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	26
4.1. Comissão de Ética.....	26
4.2. Local de Execução do Estudo.....	26
4.3. Delineamento Experimental.....	26
4.4. Exame Clínico.....	28
4.5. Avaliação do escore de condição corporal e adiposidade regional.....	29
4.6. Análises Laboratoriais.....	31
4.7. Análise Estatística.....	33
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34
6. CONCLUSÕES.....	45
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45
8. ANEXOS.....	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores médios e desvio padrão das medidas utilizadas na caracterização dos grupos experimentais.....	34
Tabela 2. Valores médios e desvio padrão das dosagens bioquímicas e hormonais de equinos com diferentes condições corporais.....	36
Tabela 3. Valores médios e desvio padrão das concentrações séricas de proteínas de fase aguda de equinos com diferentes condições corporais.....	43

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Classificação do escore de condição corporal em equinos.....	30
--	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. As diferentes frações da hemoglobina.....	15
Figura 2. Demonstração esquemática da síntese de proteínas de fase aguda....	19
Figura 3. Áreas avaliadas para estimar a gordura corporal e escore de condição corporal.....	29
Figura 4. Esquema demonstrando os três diferentes pontos mensurados a partir da cernelha, utilizados no experimento.....	31
Figura 5. Sistema vertical de eletroforese utilizado no experimento.....	32
Figura 6. Gráfico das concentrações séricas de frutossamina por animal utilizado no experimento.....	38
Figura 7. Gráfico das concentrações plasmáticas de HbA1c por animal utilizado no experimento.....	39
Figura 8. Gráfico das concentrações plasmáticas de leptina por animal utilizado no experimento.....	40
Figura 9. Gráfico das concentrações plasmáticas de proteínas de fase aguda que apresentaram diferença estatística entre os grupos.....	44

LISTA DE ABREVIATURAS

ALT: Alanina aminotransferase
AST: Aspartato aminotransferase
C1: Complemento 1
CD4+: Grupamento de diferenciação 4
CD8+: Grupamento de diferenciação 8
ECC: Escore de Condição Corporal
ELISA: Ensaio de imunoabsorção enzimática
GGT: Gama glutamiltransferase
GLUT 4: Transportador de glicose tipo 4
HbA1c: Hemoglobina glicada
IFN- γ : Intererona gama
IL-1: Interleucina 1
IL-1ra: Receptor antagonista da interleucina 1
IL-2: Interleucina 2
IL-6: Interleucina 6
kDa: Quilodáltons
LPS: Lipopolissacarídeos
mRNA: Ácido ribonucleico mensageiro
NOS: Óxido nítrico sintetase
°C: Graus Celsius
PCR: Proteína C Reativa
ROS: Espécies reativas de oxigênio
SDS-PAGE: Eletroforese em gel de poliacrilamina contendo dodecil sulfato de sódio
SNC: Sistema nervoso central
sTNF-R: Receptor de fator de necrose tumoral solúvel
TAM: Tecido Adiposo Marrom
TLR4: Receptores *toll like* 4
TNF- α : Fator de Necrose Tumoral α
UCP1: Proteína de desacoplamento 1

RESUMO

GIRARDI, Fabricia Modolo, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, maio de 2017. **Valores sanguíneos de leptina, glicose, insulina e proteínas glicadas e de fase aguda, em equinos com sobrepeso.** Orientador: José Dantas Ribeiro Filho. Coorientador: Leandro Abreu da Fonseca.

A obesidade é vista como um problema de saúde mundial, considerada uma epidemia pela Organização Mundial de Saúde, que estima que haja no mundo mais de um bilhão de humanos adultos com sobrepeso, e cerca de 266 milhões de homens e 375 milhões de mulheres com quadros de obesidade. Acompanhando essa tendência, a obesidade vem se tornando frequente também entre os equinos, sendo que, em países desenvolvidos a obesidade atinge em torno de 19 a 45% dos cavalos com sobrepeso. Devido à escassez de estudos sobre a influência da sobrepeso em parâmetros bioquímicos (glicêmicos e inflamatórios) em equinos no Brasil, o objetivo deste trabalho foi realizar uma avaliação de constituintes do metabolismo glicêmico (glicose, HbA1C, frutossamina e insulina) e inflamatórios (leptina e proteínas de fase aguda), buscando verificar uma possível associação entre sobrepeso e alterações das variáveis estudadas. Foram utilizados 18 animais, de ambos os sexos, da raça Mangalarga Machador, com idade entre 5 e 15 anos, peso corporal médio de 400 Kg, em que foram avaliados previamente por meio de exame físico, hemograma e perfil bioquímico de função renal e hepática com o objetivo de atestar a sanidade geral dos animais. Também foi realizada anamnese para a verificação de história pregressa de cólica, claudicação e/ou laminite, nos quais foram utilizados como critérios de exclusão dos animais. Os animais foram pesados e avaliados quanto ao escore de condição corporal e adiposidade regional por meio da circunferência do pescoço. Os 18 animais foram distribuídos em dois grupos: 9 no grupo C (controle) composto por animais dentro do peso normal e com escore de condição corporal ≤ 5 (cinco); 9 no grupo O (sobrepeso) formado por animais com escore de condição corporal ≥ 6 (seis). Após realizados todos os procedimentos, foram observadas diferenças estatísticas significativas para a avaliação ultrassonográfica da base da cauda, abdômen ventral e circunferência do pescoço entre o grupo de animais normais (Grupo C) e o grupo com sobrepeso (Grupo O). Em relação às análises bioquímicas, foram observadas diferenças estatísticas significativas para as avaliações das concentrações de frutossamina, HbA1c e leptina entre os grupos; dentre as proteínas de fase aguda, foram observadas diferenças estatísticas significativas nas concentrações séricas de ceruloplasmina, $\alpha 1$ -antitripsina e haptoglobina. As proteínas de fase aguda IgA, transferrina, albumina, IgG, glicoproteína ácida e proteína C reativa não

apresentaram diferenças estatísticas entre os grupos. Sendo assim, podemos concluir que a leptina plasmática é um bom indicador em equinos que apresentam sobrepeso, além disso, frutossamina e HbA1c, fornecem dados mais precisos quanto à variação glicêmica pregressa no momento da coleta e, portanto, refletem de forma melhor o histórico do metabolismo energético dos animais. O aumento nas concentrações séricas de ceruloplasmina, haptoglobina e α 1-antitripsina nos animais com sobrepeso sugerem que adipocinas pró inflamatórias em adipócitos possam atuar induzindo à liberação das mesmas, uma vez excluídas outras possíveis causas inflamatórias.

ABSTRACT

GIRARDI, Fabricia Modolo, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, May, 2017. **Blood values of leptin, glucose, insulin and glyced proteins and acute phase, in overweight equines.** Advisor: José Dantas Ribeiro Filho. Co-advisor: Leandro Abreu da Fonseca.

Obesity is seen as a global health problem, considered an epidemic by the World Health Organization, which estimates that there are more than one billion overweight adult humans in the world, and about 266 million men and 375 million women with obesity. Following this trend, obesity is becoming frequent among equines, and in developed countries obesity affects around 19% to 45% of overweight horses. Due to the lack of studies about the influence of overweight on biochemical parameters (glycemic and inflammatory) in horses in Brazil, the objective of this study was to evaluate the constituents of glycemic metabolism (glucose, HbA1C, fructosamine and insulin) and the inflammatory (leptin and acute phase proteins), seeking to verify a possible association between overweight and changes in the studied variables. Anamnesis was also performed to verify previous history of colic, claudication and/or laminitis, which were used as exclusion criteria for the animals. The animals were weighed and evaluated for body condition score and regional adiposity by neck circumference. The 18 animals were divided into two groups: 9 in group C (control) composed of animals within normal weight and body condition score ≤ 5 (five); The O group (overweight) formed by 9 animals with body condition score ≥ 6 (six). After performing all the procedures, a significant statistical difference was observed for the ultrasonic evaluation of the tail base, ventral abdomen and neck circumference between the group of normal (Group C) and overweight (Group O). Regarding the biochemical analyzes, a statistically significant difference was observed for the evaluation of the concentrations of fructosamine, HbA1c and leptin between the groups. Among the acute phase proteins, a significant statistical difference was observed in serum concentrations of ceruloplasmin, α 1-antitrypsin and haptoglobin. The acute phase proteins IgA, transferrin, albumin, IgG, acid glycoprotein and C-reactive protein showed no statistical difference between the groups. Thus, it can be concluded that plasma leptin is a good indicator in horses that present overweight, in addition, fructosamine and HbA1c, provide more precise data regarding the glycemic variation prior to the time of collection and, therefore, it better reflects the history of the energetic metabolism of the animals. The increase in serum concentrations of ceruloplasmin, haptoglobin and α 1-antitrypsin in overweight animals suggests that pro-inflammatory adipokines in adipocytes may act to induce their release, once other possible inflammatory causes have been excluded.

1. INTRODUÇÃO

A obesidade é vista como um problema de saúde mundial, considerada uma epidemia pela Organização Mundial de Saúde, que estima que haja no mundo mais de um bilhão de humanos adultos com sobrepeso, e cerca de 266 milhões de homens e 375 milhões de mulheres com quadros de obesidade, estima-se ainda que, aproximadamente 20% de toda a população adulta do mundo estará acima do peso em 2030 (PHILLIPS, 2016).

Nesse sentido, a obesidade vem se tornando frequente também entre os animais de companhia. De acordo com Bruynsteen et al. (2014), em países desenvolvidos a obesidade atinge em torno de 19 a 45% dos cavalos com sobrepeso.

O equino é uma espécie de vida livre e herbívora, cuja alimentação ocorre em pequenas porções e de forma contínua durante todo o dia, necessitando basicamente de gramíneas e água para sua manutenção (BRANDI e FURTADO, 2009). Todavia, com a adaptação dos equinos como animais de companhia, ocorreram mudanças nutricionais intensas e nem sempre a atividade física ocorre para essa espécie, resultando em ganho de massa adiposa em detrimento da massa muscular (JOHNSON et al., 2012). Decorrente disso, as comorbidades resultantes da obesidade têm sido descritas de forma semelhante às ocorridas com o homem nas últimas décadas, de modo que, a medicina veterinária tem procurado de forma urgente alcançar resultados amenizadores (JOHNSON et al., 2009).

A laminite é uma das comorbidades que pode estar associada à obesidade, porém, nem sempre é diagnosticada com facilidade, podendo ser aguda ou silenciosa. Nos equinos com sobrepeso em países tropicais, a laminite se desenvolve com maior frequência de forma silenciosa e, muitas vezes, o distanciamento da falange distal do estojo córneo já se apresenta em estágio avançado, quando o equino apresenta os primeiros sinais dolorosos (FALEIROS et al., 2012).

Devido à escassez de estudos sobre a influência do sobrepeso em parâmetros bioquímicos (glicêmicos e inflamatórios) em equinos no Brasil, o objetivo deste trabalho foi realizar uma avaliação de constituintes do metabolismo glicêmico e inflamatório, buscando verificar uma possível associação entre sobrepeso e alterações das variáveis estudadas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Os efeitos negativos do sobrepeso sobre a saúde dos equinos ainda não estão bem definidos como em humanos. Nesse sentido, a interligação entre sobrepeso e laminite é cada vez mais observada.

Os depósitos regionais como os do dorso do pescoço, são ligados a desequilíbrios metabólicos (CARTER et al., 2009). Esse tecido libera pequenas quantidades de citocinas e hormônios, nomeados de adipocinas. Entretanto, no quadro de obesidade, elevadas concentrações dessas adipocinas são excretadas resultando em efeitos deletérios importantes, segundo Johnson *et al.* (2009).

2.1. Sobrepeso em equinos

Os equinos são herbívoros por natureza, e precisam consumir fibras vegetais para manter a homeostase do seu sistema digestório. As forragens cobrem as necessidades nutricionais de manutenção, mais são insuficientes para sustentar cavalos de esporte, trabalho ou de produção altamente exigente (BRUYNSTEEN et al., 2014). Brandi e Furtado (2009), mencionam a importância da alimentação dos equinos utilizando principalmente carboidratos estruturais, dado fato que o sistema digestório dessa espécie evoluiu para o melhor aproveitamento desse tipo de fibra, também é de suma importância o pastejo na rotina do cavalo, assim é possível minimizar os inúmeros problemas resultantes do desequilíbrio nutricional e do sedentarismo.

Visto isso, o uso de uma dieta com excesso de grãos e de gramíneas ricas em carboidratos não estruturais, principalmente com forrageiras que foram desenvolvidos para nutrição de ruminantes, exacerbam as necessidades energéticas e predisõem a enfermidades metabólicas (WATTS, 2004).

Uma das barreiras da problemática nutricional é atribuída ao proprietário e a própria indústria do cavalo; onde há uma distorção da real condição corporal do equino, subestimando o excesso de peso animal (ROBIN et al., 2015). Além do mais, há uma idealização equivocada de que uma boa linhagem genética animal é aquela que melhor mantém o peso em condições de escassez de alimento (WATTS, 2004; JOHNSON et al., 2012; ROBIN et al., 2015)

Inúmeros fatores genéticos têm sido estudados com mais de 250 genes relacionados a obesidade, adicionados os mecanismos endócrino-metabólico relacionado à ingestão alimentar (LEITE et al., 2009). Mancini (2015) cita que no homem, os genes explicam de 40 a 70% da diferença de peso corporal entre pessoas. Johnson et al., (2009), relata que devido a escassez e oferta de alimento

durante o processo de evolução animal, insurgiram genes adaptativos para a melhor conversão alimentar, chamados de "genes econômicos".

Diversos autores descreveram características para definir causa e efeito da obesidade; Marti e Martinez (2001), definiram a obesidade humana como uma condição patológica acompanhada por acúmulo excessivo de gordura quando comparada com valores previstos para dada estatura, gênero e idade. Conway e René (2004), descrevem a obesidade humana como uma enfermidade complexa de etiologia multifacetada, com sua própria fisiopatologia, comorbidades e capacidades desabilitantes. Romero e Zanesco (2006), acreditam que fatores ambientais são mais prevalentes no descontrole de peso no homem. Gimenez et al. (2016), alegam que no equino fatores genéticos associados a raça influenciam nos depósitos de gordura. Por fim, Johnson et al. (2009), sugeriram que as causas que levam os animais domésticos a desenvolverem obesidade são análogas às causas da obesidade dos seres humanos.

Segundo Mancini (2015), a obesidade de forma geral no mamífero é uma enfermidade poligênica caracterizada como um acúmulo de tecido adiposo por todo o corpo, mas a elevação da prevalência de obesos é resultado sobretudo de mudanças na alimentação, com a maior adição de energia e menor gasto energético, ainda descreve uma importante observação que indivíduos (homem) com obesidade desde a infância possuem maior número de células adiposas em comparação com aqueles que se apresentam obesos na idade adulta.

Visto isso, a etiologia da obesidade não é simples de se identificar, dessa forma, podem estar inclusos no mesmo indivíduo, humano ou animal, características genótípicas e fenotípicas que podem ou não induzir fatores endócrinos e metabólicos que resultam no aumento do peso de forma descontrolada.

Tendo em vista isso, as pesquisas visam estudar a obesidade como uma doença global do homem e das espécies domésticas. Assim como, suas consequências e os fatores que a predispõe, deste modo com o avanço da ciência associada ao sobrepeso no homem, deu-se início ao estudo da sua correlação com a hipertensão, cardiomiopatias, aterosclerose, diabete mellitus, dislipidemias (CASELLA FILHO, 2007; GOOSSENS e BLAAK, 2015). Além disso, determinados cânceres, fatores orgânicos, genéticos, ambientais e culturais, unidos aos distúrbios alimentares são alvo das pesquisas atuais (TRAYHURN, 2013; GUPTA et al., 2016).

Ainda, as alterações metabólicas decorrentes do sobrepeso na espécie equina podem também ser advindas de depósitos específicos de gordura, principalmente, os acúmulos de gordura na cernelha (dorso do pescoço), base da cauda, intra abdominal (recobrimdo vísceras e omento), subcutânea (BRUYNSTEEN

et al., 2013), escapular, prepúcio e glândulas mamárias (CRESCENCIA e ROSAS FILHO, 2014).

Sanchez et al. (2016), destacam que a gordura na região da cernelha pode ser metabolicamente comparada à gordura visceral abdominal do homem, amplamente estudada na medicina humana.

Diversos métodos para mensuração da adiposidade em equinos foram propostos ao longo dos anos. Johnson et al., (2009) relataram sobre o uso da ultrassonografia em equinos para aferição da espessura de gordura subcutânea como um parâmetro semelhante à quantificação de índice de massa corporal no homem, dando ênfase para a medição de gordura da garupa como um indicador de gordura corporal. Schauer (2015), afirmou que a ultrassonografia é uma importante ferramenta de avaliação da composição da carcaça em animais de produção. Silva et al. (2016) e Quaresma et al. (2013), por sua vez, fundamentaram que a ultrassonografia é uma ferramenta precisa quando comparada aos parâmetros morfométricos como os de pontuação de condição corporal, que podem ser subjetivos, porém, necessita como em qualquer técnica de profissionais treinados para estabelecer as dimensões entre a pele e a camada de gordura. Outros equipamentos de imagens apresentam desvantagem, por não comportarem as dimensões do animal ou por serem de difícil transporte e alto custo. Além do ultrassom ser um método não invasivo, o procedimento pode ser feito na rotina com o animal em estação, assegurando o bem estar animal (SCHOLZ et al., 2015).

Henneke et al. (1983) desenvolveram uma escala de escore de condição corporal (ECC) com éguas da raça Quarto de Milha no terço final da gestação, baseando-se na observação da aparência geral dos animais e na palpação da cobertura de gordura em seis pontos do animal, sendo eles, dorso do pescoço, cernelha, costelas, parte posterior das escápulas, processos espinhosos lombares e região da inserção da cauda. Segundo os autores, este método, quando corretamente aferido, não sofre influência de tamanho, conformação, perímetro torácico, altura, características de pelagem ou estado fisiológico do indivíduo, além disso, os autores verificaram uma correlação positiva entre o ECC e o percentual de gordura corporal, comprovando que esse método considera o animal de forma global e não apenas medidas individuais.

2.2. Tecido adiposo e inflamação

O tecido adiposo certamente na maioria das espécies que o possuem é um tecido multipotente, com função autócrina, parácrina e endócrina, e Kennedy em

1953, já sugeria a presença de alguma substância advinda do tecido adiposo com ligação com sistema nervoso que regulava a homeostase energética (GALIC et al., 2009).

Esse tecido é reservatório vital de energia, já que as células necessitam de combustível constante, e nem sempre há oferta de alimento. Fatores relacionados à genética, acréscimo da ingestão de calorias, redução do gasto energético, aumento do número de adipócitos, substâncias expressas e redução da capacidade de oxidação das gorduras, são etapas que devem ser elucidadas para o conhecimento do sistema adipocitário (GOOSSENS e BLAAK, 2015; GALIC et al., 2009).

O sistema nervoso central, periférico e os mecanismos humorais estão associados ao tecido adiposo, atuando na regulação da fome, da saciedade e da própria inflamação. A importância da inflamação correlacionada com a obesidade e a resistência à insulina iniciou-se por volta de 1993 com estudos preliminares, através dos quais, a expressão do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) no tecido adiposo de animais obesos estava aumentada (HOTAMISLIGIL et al., 1993). E em 1994 com a descoberta da leptina também sendo expressa pelo tecido adiposo (ZHANG et al., 1994).

O órgão adiposo é dividido em tecido adiposo marrom e branco, o tecido marrom (TAM) é preenchido por diversos lócus de gordura e mitocôndrias, exercendo função termogênica, processo que ocorre através da oxidação de ácidos graxos, realizado pela "proteína de desacoplamento" (UCP1), presente nas mitocôndrias (TRAYHURN, 2013; DODD et al., 2015). Esse tecido é densamente irrigado e possui a característica de diminuir com a idade e em obesos (DODD et al., 2015).

Entretanto, o tecido adiposo marrom no homem pode se apresentar à depender de estímulos específicos (DODD et al., 2015). Esse processo ocorre em situações de diferenciação de linhagens germinativas mesenquimais, que podem dar origem a miócitos, condrócitos, osteoblastos e pré-adipócitos derivando em adipócitos brancos e marrons (MANCINI, 2015).

O tecido adiposo branco armazena triglicerídeos em uma única inclusão lipídica (unilocular) e disponibiliza na circulação os ácidos graxos livres, possui poucas mitocôndrias, apresenta função metabólica com peptídeos bioativos (adipocinas) além de substâncias de caráter lipídico (SIPPEL et al., 2014). É composto por tecido conjuntivo, fibroblastos, tecido nervoso, tecido vascular e células progenitoras endoteliais, leucócitos principalmente macrófagos e linfócitos T e B, mastócitos e pré-adipócitos (ADYA e VANNIASINKAM, 2015).

Trayhurn (2013) propõe uma unificação, onde ambos os tecidos branco e marrom podem estar presentes em um mesmo locus, o que não mais os diferenciaria em tecidos distintos. Dodd et al. (2015), cita que em roedores o aumento do escurecimento do tecido adiposo branco, eleva o gasto energético e a tolerância à glicose.

Ainda há o conceito do tecido adiposo bege, este, transdiferencia-se entre o tecido branco e marrom, apresenta a UCP1, mas não possui todas as características do tecido marrom, em situações de frio e sobre estímulos simpatomiméticos e catecolaminas este tecido pode apresentar-se (TRAYHURN, 2013; SIPPEL et al., 2014; DODD et al., 2015)

O tecido adiposo visceral no homem constitui 25% da massa adiposa, sendo um importante fornecedor de energia, com forte potencial lipolítico provendo 26% dos ácidos graxos livres circulantes (MANCINI, 2015). Além disso, existem os depósitos de adipócitos ectópicos, como exemplo da arteriosclerose (GOOSSENS e BLAAK, 2015). Ainda há os locos especializados, como linfonodos, adipócitos mamários e medular, havendo assim, uma grande especialização fisiológica e heterogeneidade das células adiposas dependendo da localização do tecido. Dada sua função na homeostase, esse órgão é considerado dinâmico envolvido em uma variada gama de processos metabólicos e fisiológicos (LEITE et al., 2009)

O tecido adiposo branco mais especificamente é identificado como o foco secretor de mais de 100 substâncias bioativas com caráter proteico que interagem com diversos tecidos de forma periférica ou central, estimulando processos metabólicos (TRAYHURN, 2013).

Assim, nesse sentido, uma importante consideração é dada fundamentalmente pelo montante da massa adiposa, tendo em vista que, cada adipócito produz uma pequena alíquota de metabólitos. Já o tecido adiposo como um todo, produz uma expressiva quantidade de substâncias, ainda que, considerado um estado inflamatório brando, este, impacta na função de homeostase corporal levando principalmente ao quadro de resistência à insulina (MAKKI et al., 2013; TRAYHURN, 2013).

Os cavalos sofrem também com esse quadro inflamatório silencioso, correlacionando-se com a síndrome metabólica resultando muitas vezes em laminite (SUAGEE et al., 2013; BORER et al., 2015).

Além disso, as características das células adiposas quanto a sua morfologia, tamanho, número e localização são impactantes na quantidade e qualidade das adipocinas liberadas, tanto no homem como no equino (BRUYNSTEEN et al., 2013). Em indivíduos (homem) obesos desde jovens, os adipócitos podem apresentar-se

maiores e também grande número de adipócitos pequenos, que concomitantemente levam ao quadro maior inflamação (MANCINI, 2015).

Em relação às fontes energéticas para a manutenção das funções vitais orgânicas nos mamíferos em geral são armazenadas no fígado, músculo e tecido adiposo. Principalmente fígado, com um terço da estocagem da glicose pós prandial, e secundariamente no músculo, a glicose armazenada na forma de glicogênio, é fonte de energia prontamente disponível (THRALL et al., 2015).

Em cães, já foi relatado que nos rins ocorre gliconeogênese, mais especificamente nas células epiteliais dos túbulos contornados proximais, sendo fornecedor de 30% da glicose em jejum (THRALL et al., 2015).

Os aminoácidos são a fonte estrutural primária do músculo, estando disponíveis principalmente em carências de reservas de glicose e gordura, os ácidos graxos livres são armazenados como triglicerídeos nos adipócitos, funcionando como reservatório de energia; eles abastecem o organismo com ácidos graxos livres em situações em que as reservas de glicogênio encontram-se escassas e assim asseguram a homeostase (THRALL et al., 2015).

Em caso de excesso de ácidos graxos livres circulantes, estes podem se depositar sobre tecidos e dentro das células, como fígado e músculos; no homem, há uma correlação direta entre o aumento da inflamação com uma dieta rica em gorduras saturadas, já as insaturadas possuem efeito anti-inflamatório (MANCINI, 2015).

Elzinga et al. (2015), constataram que cavalos com síndrome metabólica têm elevados valores lipídicos em comparação com os controles sadios. Nesse processo, o desequilíbrio energético e inflamatório crônico advindo dos depósitos de gordura acontecem e conseqüentemente um quadro de inflamação que pode desencadear a resistência à insulina (GOOSSENS e BLAAK, 2015; ADYA e VANNIASINKAM, 2015).

Kronfeld et al. (2005), sugerem que a combinação de uma dieta rica em frutanos e uma sensibilidade diminuída à insulina estão correlacionadas à laminite, uma vez que, a ingestão excessiva de carboidratos pode causar rápida fermentação elevando a lise das paredes lipopolissacarídicas das bactérias da microbiota intestinal e resultar na liberação de toxinas na corrente sanguínea, essas toxinas levam a liberação de collagenases que degradam as lâminas do casco e o próprio colágeno, a glicose é citada como protetora contra a ação danosa da collagenase nesse sentido, a inferior atuação da insulina impede essa função da glicose. Outro problema correlacionado com a resistência à insulina, é a sua função como vasodilatadora, o que não ocorre nos casos de resistência, resultando na liberação

vascular de endotelina; a endotelina por sua vez, gera vasoconstrição e isquemia por reperfusão o que leva à inflamação. Os mesmos autores relatam que a metabolização de ácidos graxos nas mitocôndrias são uma outra forma de liberação de radicais livres que levam a danos vasculares, que podem intensificar o risco à laminite.

Porém, Banse et al. (2015), observaram que equinos obesos possuem mecanismos antioxidantes que os protegem dos danos causados pelos radicais livres na musculatura esquelética, deixando ainda um grande vazio no conhecimento da fisiologia dessa espécie.

No ser humano, o avanço no conhecimento da fisiologia do órgão adiposo, mais especificamente no processo de diferenciação dos pré-adipócitos em adipócitos adultos, observou-se que o TNF- α pode estimular genes que incitam o surgimento de células pré-adipocíticas (XU et al., 2003).

Inúmeras outras substâncias expressas relacionadas direta ou indiretamente à inflamação foram sendo identificadas, como a leptina e adiponectina, além dessas, as citocinas TNF- α e interleucina 6 (IL-6), secretadas principalmente pelas células inflamatórias presentes no tecido adiposo têm se destacado no estudo das doenças crônicas associadas com a obesidade (LEITE et al., 2009; WOOD et al., 2009; NEELS e OLEFSKY, 2006).

Em estudos experimentais com camundongos, foi demonstrado a ocorrência da hipóxia em depósitos de tecido adiposo de indivíduos obesos (TRAYHURN, 2013; ADYA e VANNIASINKAM, 2015; LAWLER et al., 2016). Uma sugestão, é a de que a hipóxia resultante da compressão vascular e tecidual adiposa, eleva a expressão de adipocinas pró-inflamatórias, ao mesmo tempo, o metabolismo oxidativo é desencadeado, com a via da glicólise anaeróbica e produção de lactato (TRAYHURN, 2013).

A hipóxia ainda induz indiretamente ao quadro de resistência à insulina nas células de gordura e também acarreta o desenvolvimento de fibrose do tecido adiposo (TRAYHURN, 2013; ADYA e VANNIASINKAM, 2015; LAWLER et al., 2016).

Outra hipótese que tem sido abordada e correlacionada com o aumento da inflamação é a dos receptores de reconhecimento padrão (*toll-like*) (MILANSKI, 2009). Cogita-se que o excesso na demanda de nutrientes eleva o limiar de trabalho do retículo endoplasmático dos adipócitos, que por sua vez, o alto estresse culmina na liberação de proteínas defeituosas (DONG et al., 2014). Essas proteínas ativam o sistema de receptores tipo *toll*, mais especificamente o receptor *toll-like* 4 e 2, iniciando um quadro inflamatório (MILANSKI, 2009).

Outra possibilidade sugere que o afluxo lipídico para o tecido adiposo gera uma sobrecarga e expansão celular, que por sua vez, necessita de maior angiogênese, sabe-se que o aumento da massa adiposa excede a distância de difusão de oxigênio e nutrientes, provocando morte e necrose focal, desencadeando o processo inflamatório com atração de leucócitos (ZHANG et al., 2010; ADYA e VANNIASINKAM, 2015; LAWLER et al., 2016). Os monócitos oriundos principalmente da medula, mas também os circulantes e macrófagos locais são quimiotaticamente atraídos para o tecido adiposo e ativados (WEISBERG et al., 2003; WELLEN e HOTAMISLIGIL, 2003; NEELS e OLEFSKY, 2006). Ainda, macrófagos também podem ser originados dos pré-adipócitos (XU et al., 2003). Essas células chegam a constituir 40% da população celular local, fazem fagocitose local de células mortas e culminam no agravamento da inflamação por lançarem inúmeras citocinas na circulação (WEISBERG et al., 2003; NEELS e OLEFSKY, 2006).

Sugere-se que isso ocorra por ingurgitamento do adipócito branco e hipóxia, com liberação da proteína quimiotática de monócitos tipo 1 (quimiocina 2) e fator inibitório-1 (o que impede a egressão das células do tecido), também ocorre liberação através dos adipócitos e dos macrófagos, do TNF- α e IL-6, e da ação parácrina da leptina, que supostamente dão manutenção a quimiotaxia para migração monocitária (WOOD et al., 2009).

A característica à princípio desse macrófago presente no tecido adiposo é anti-inflamatória (macrófagos M2) com agregação ao redor dos focos celulares hipóxicos; em obesos, estudos relatam que o M2 pode transformar-se em M1, este com características inflamatórias, agravando o quadro inflamatório (MANCINI, 2015).

Em pacientes humanos obesos têm-se demonstrado a elevação do nível circulante de muitas citocinas pró inflamatórias e também de proteínas de fase aguda associadas à inflamação, o que tem caracterizado a obesidade como um estado inflamatório crônico (WELLEN e HOTAMISLIGIL, 2003). Neste contexto, Voltarelli (2010) descreve que a elevação de duas a três vezes acima dos valores basais das proteínas circulantes, TNF- α , IL-1, IL-6, IL-1ra, sTNF-R e proteína C reativa (PCR), caracteriza o estágio inflamatório crônico de baixo grau.

Xu et al. (2003), citam que tanto a proteína quimiotática de monócitos-1, macrófagos infiltrados, TNF- α , IL-6 e PCR, estão relacionados mesmo que de forma indireta a menor tolerância à insulina à nível celular e a síndrome metabólica.

Adya e Vanniasinkam (2015) relatam que a regulação da angiogênese do tecido leva à diminuição do quadro inflamatório. Assim como, melhora a disponibilidade de glicose para o tecido esquelético, com o aumento do número de

receptores celulares para insulina e de seu transportador GLUT 4, diminuindo a incidência de resistência à insulina (COCATE et al., 2011).

Nos equinos, a extensão de gordura generalizada e/ou por depósitos regionais estão muitas vezes diretamente relacionados ao risco de síndrome metabólica, o acúmulo de gordura na crista do pescoço pode ser um indicativo da hiperinsulinemia/resistência à insulina, contribuindo para inflamação e indiretamente a ocorrência da laminite (CARTER et al., 2009b; BRUYNSTEEN et al., 2013).

A síndrome metabólica equina engloba um conjunto de enfermidades silenciosas ou não. O sobrepeso abre a lista como uma característica frequente, mas nem sempre os autores confirmam que todo animal com síndrome metabólica é obeso ou possui uma conformação corporal específica obrigatória para o desenvolvimento da síndrome, uma concordância entre grande parte dos autores se concentra na resistência à insulina (JOHNSON et al., 2012; BRUYNSTEEN et al., 2013). Todavia, uma discussão que envolva diretrizes para o desenvolvimento da laminite crônica ou aguda e os parâmetros neuroendócrinos envolvidos na síndrome ainda são pouco esclarecidos nessa espécie.

Hoje propõem-se que os animais com elevada adiposidade devem ser examinados quanto aos seus índices glicêmicos, triglicérides, fertilidade, e valores de hormônios coadjuvantes com o sobrepeso, como a leptina (JOHNSON et al., 2012). Além da observação das anormalidades de crescimento do casco (MAGALHÃES et al., 2014).

Bruynsteen et al. (2013) coletaram diferentes amostras de tecido adiposo de equinos e demonstraram a deposição de células apresentadoras de antígenos em áreas focais ao redor de células adiposas necróticas; no homem, isto está relacionado com elevada morte de adipócitos, o que sugere uma potente fonte de citocinas pró inflamatórias.

O consenso que tem prevalecido na classe veterinária é que as enfermidades que cursam com sobrepeso e/ou depósitos regionais são crescentes e alarmantes, e que uma política de controle deve ser estabelecida junto à classe médica veterinária, indústrias de produtos nutricionais e proprietários, além de estudos de prevalência do sobrepeso na espécie equina e nas raças prevalentes no Brasil.

Visto isso, para o controle do processo inflamatório crônico e a diminuição da ocorrência de doenças crônicas e metabólicas em pacientes com sobrepeso, o exercício físico contínuo e moderado é recomendado. A atividade física promove aumento da lipólise no tecido adiposo e muscular esquelético, resultando em ações antiinflamatórias, mediante uma redução de tecido adiposo e consequentemente

diminuição da liberação de adipocinas pró inflamatórias (CASELLA FILHO, 2007; SIPPEL et al., 2014).

2.3. Sobrepeso, leptina e o metabolismo energético

Diversos fatores são associados à obesidade, dentre eles, a leptina é um hormônio que está diretamente ligado ao controle do peso corporal. Segundo Campos (2011), a deficiência de leptina, pode ser um fator causador da obesidade e diabetes. O mesmo autor afirma que a leptina participa do balanço energético, atuando como um sensor, enviando informações ao cérebro.

O nome leptina é derivado do grego leptos (magro), seus primeiros estudos iniciaram-se em meados dos anos 50, mas somente em 1994 Zhang e colaboradores, com a clonagem dos genes ob e db deu-se o marco inicial para pesquisa aprofundada (SIGNORE et al., 2008). Esse hormônio apresenta peso molecular de 16 kDa, transcrito a partir do gene ob/ob em camundongos geneticamente obesos. É uma proteína formada por 167 aminoácidos e sua sequência genética mostra-se semelhante entre algumas espécies, como por exemplo bovino 95,6%; suíno 92,8%; humano 88,2%; rato 83,6%; camundongo 82% (KUMAR et al., 1998).

A leptina amplia as características do tecido adiposo dando o caráter de órgão endócrino e certamente sua função é o principal sinal aferente ao sistema nervoso central de ajuste da adiposidade (NABI et al., 2015). Com maior expressão dada pelo tecido adiposo subcutâneo, possivelmente pelo maior tamanho dos adipócitos, entretanto, também pode ser expressa por outros tecidos, tais como placentário, gástrico, muscular esquelético, tecido adiposo marrom, feto, coração e cérebro, coatuando nesses sistemas, com função neuroprotetora, reprodutiva, termogênica entre outras inúmeras funções homeostáticas (SIGNORE et al., 2008)

Sua secreção é maior no pós-prandial e menor em períodos de jejum (MANCINI, 2015). E nas mulheres seu limiar é maior em função do maior volume de tecido adiposo subcutâneo, dos estímulos pelos estrógenos e pela ação inibitória da leptinemia dos andrógenos (XU et al, 2011; NABI et al., 2015).

De maneira geral a ação da leptina no hipotálamo induz a diminuição da ingestão alimentar e acréscimo do gasto energético, conjuntamente com a regulação da função neuroendócrina e do metabolismo da glicose e de gorduras (NABI et al., 2015).

Mancini (2015) relata que mudanças da massa adiposa são as que melhor delimitam a expressão da leptina, e não diretamente relacionada ao consumo de

alimento. A função intermediária entre o controle da adiposidade e o controle imediato da saciedade é desempenhada pela insulina, isso porque, a insulina não eleva-se somente com a ingestão alimentar, mas também com a densidade de massa adiposa.

Dessa forma, salienta-se que a leptina e a insulina estimulam vias celulares análogas (*cross-talk* molecular) a nível hipotalâmico, portanto, os efeitos de ambas sobre o peso e a saciedade são complementares, onde a insulina opera intensificando a sinalização da leptina (KONNER e BRUNING, 2012)

A meia vida plasmática da leptina é de 25 minutos (NABI et al., 2015). Pode apresentar-se ligada a uma proteína carreadora (receptores solúveis) ou na forma livre até o momento em que se conecta em um receptor de superfície celular presente em diversos órgãos ou até sua excreção pelos rins (BENATTI e LANCHA, 2007).

Em humanos e animais de experimentos, estudos têm tentado demonstrar as possíveis falhas em mecanismos de atuação da leptina. Em casos de obesidade mórbida já houve comprovação da ausência ou deficiência parcial da leptina, levando à morte de indivíduos (TREVASKIS et al., 2016). Outras tentativas foram de justificar a hiperleptinemia em pessoas obesas, consistindo em comprovar uma plausível resistência à leptina condicionada a uma mutação nos seus receptores a nível hipotalâmico, outras propostas dizem respeito a uma deficiência no carregamento da leptina ao sistema nervoso central e/ou um possível defeito pós receptor (GUIMARÃES et al., 2007). Deficiências pós receptores estão relacionadas a mecanismos intracelulares. Dessa forma, uma hiperleptinemia compensatória pode ser observada (KONNER e BRUNING, 2012).

Em animais de laboratório e raramente em humanos, a mutação gênica da leptina (*ob/ob*) ou defeito no seu receptor (*db/db*), tem corroborado a confirmação da resistência hipotalâmica à leptina e também à insulina (MANCINI, 2015).

A leptina atua através da ativação de receptores transmembrana, pertencentes a família de receptores de citocina da classe 1 (SANTOS, 2008). Esses receptores podem ser encontrados em tecidos como pulmão, rim, fígado, jejuno, músculo esquelético, região medular da glândula adrenal, ovários, testículo, placenta, coração, tecido adiposo, células beta pancreáticas (BENATTI e LANCHA, 2007), núcleo arqueado, ventromedial, dorsomedial, hipotálamo lateral e células-tronco hematopoéticas (MANCINI, 2015).

A quantidade de leptina indica a quantidade de tecido adiposo, a identificação desse agente ajuda a entender que o corpo possui um indicador de gordura corporal que passa essa informação ao cérebro (CAMPOS, 2011). Em

indivíduos magros, os níveis plasmáticos de leptina são menores que em indivíduos obesos, tendo assim, uma função anorexígena (DA MOTA e ZANESCO, 2007).

Segundo Trichês e Takase (2010), em estudos com camundongos, observou-se que com a diminuição dos níveis plasmáticos de leptina, o tecido adiposo diminui e o animal come mais, em contrapartida, com o aumento dos níveis plasmáticos de leptina, o tecido adiposo aumenta e o animal come menos.

Campos (2011) também afirma que há uma relação positiva da leptina e a obesidade, onde as concentrações elevadas de gordura nas células adiposas causam o aumento na secreção da leptina no sistema circulatório, consequentemente, há um estímulo para que o hipotálamo diminua a fome e aumente o metabolismo de repouso.

A leptina estimula a produção de glicose hepática, isto foi comprovado pelo fato desse hormônio aumentar a atividade da glicose-6-fosfatase. Outro ponto observado, é que a leptina, provavelmente limita a formação hepática de triglicerídeos a partir da facilitação da entrada de ácidos graxos livres na mitocôndria e sua oxidação (SANSINANE et al., 2001)

Assim como a ação da leptina é considerada importante no que diz respeito à obesidade, outro fator que é relevante nesse aspecto é a secreção de insulina, ela é responsável pelo controle da glicemia e metabolismo das gorduras (GOMES et al., 2014). Para atuar no controle da glicose, a insulina capta a glicose plasmática em excesso e reabastece o glicogênio muscular, após a formação do glicogênio muscular, a glicose em excesso é enviada ao tecido adiposo (PAULA, 2013).

A insulina é um hormônio peptídico sintetizado nas ilhotas de Langerhans do pâncreas endócrino, com função na metabolização da glicose hepática e transporte de glicose para os tecido. Ela atua no tecido adiposo, como estímulo à modificação de pré-adipócitos em adipócitos, e nessas células armazena os triglicérides. Já, no jejum, ocorre a lipólise, com o lançamento na circulação dos ácidos graxos livres, hidrolisando os triglicérides (THRALL, 2015)

Dessa forma, Van de Sande-Lee e Velloso (2012) afirmam que a insulina, assim como a leptina, tem função de regular o balanço energético. Contrastando com seus efeitos anabólicos da insulina, esta pode resultar em uma ação hipotálâmica que produz efeitos catabólicos, podendo haver uma interrelação da ação desses dois hormônios.

Segundo Milanski (2009), a leptina é o primeiro sinalizador periférico para o hipotálamo de maior importância, o segundo é a insulina, esses dois hormônios possuem receptores nos grupos neuronais anorexígenos e orexígenos, atuando no acúmulo de gordura e no controle da saciedade.

A leptina ainda estimula o sistema imune no combate e prevenção de doenças, daí a característica pró-inflamatória (MAKKI et al., 2013). A expressão da leptina é aumentada em casos de hipóxia no tecido adiposo (LEITE et al., 2009). Consequentemente, essa adipocina atua em conjunto com proteínas quimiotáticas que culminam em elevar a migração de monócitos e macrófagos principalmente de origem medular ao tecido adiposo (WOOD et al., 2009).

Ainda no tecido adiposo, estudos experimentais em ratos, demonstram que em um quadro induzido de hipóxia nos adipócitos pode induzir a insulino resistência por impedir a atuação do GLUT-4 (Wood et al; 2009).

Ocorre também, o estímulo para o aumento da expressão de citocinas inflamatórias como, TNF- α e IL-6 pelos macrófagos (SILVEIRA et al., 2009, WOOD et al., 2009). Quimiotaxia e produção de neutrófilos, células *natural killer* e de células T CD4 + / CD8 + (MAKKI et al., 2013).

Outra associação, está relacionada aos radicais livres, como o oxido nítrico sintetase (NOS) e espécies reativas de oxigênio (ROS) resultantes da ação da leptina, estes estimulam a ativação, proliferação e migração de monócitos circulantes (SILVEIRA et al., 2009), assim como a resposta dos receptores *toll like* 4 (TLR4) (MILANSKI, 2009).

Em resposta ao quadro de suposta resistência periférica a leptina, pode-se notar uma incompetência imunológica elevada nos quadros infecciosos. A insensibilidade do receptor de leptina é a mais fulgente proposta, dessa forma, as células T na ausência da ação da leptina interpretam como um estado fisiológico semelhante ao da desnutrição (ALVEZ, 2006).

Em contrapartida, Leite et al. (2009), cita que provavelmente não há resistência periférica à leptina, mas sim à nível de SNC. Assim sendo, a hiperleptinemia resulta em estímulo para multiplicação das células Th1 e ativação de neutrófilos e monócitos, resultando em um estado inflamatório crônico de baixo grau, essa cronicidade pode ser crucial para a progressão da obesidade e de suas comorbidades decorrentes (ALVEZ, 2006; MAKKI et al., 2013).

Ainda, em estudos em humanos, verifica-se correlação positiva entre leptina e proteínas de fase aguda como a PCR, concluindo que leptina e PCR desempenham papel de ligação entre mecanismos metabólicos, inflamatórios e doenças cardiovasculares (GOMES et al., 2009).

Pleasant et al. (2013) citam que níveis elevados de leptina predispõem a ocorrência de laminite em equinos, principalmente se associados ao sobrepeso. Além disso, Bruynsteen et al. (2013) relatam elevada expressão de mRNA de leptina e IL-6 em coleta de tecido gorduroso de equinos na região da cernelha.

A dosagem plasmática de glicose é outro parâmetro importante de monitoramento no paciente obeso ou com sobrepeso, entretanto, poucas variações são encontradas ou quando se encontram, o paciente já avançou no processo patológico. Além disso, a dosagem de glicose reflete apenas a variação glicêmica do momento. Por outro lado, alguns testes podem ser utilizados como método de acompanhamento pregresso da glicemia, dentre eles destacam-se a frutossamina e a hemoglobina glicosilada.

A hemoglobina glicosilada, conhecida também por glicohemoglobina, hemoglobina glicada ou HbA_{1c} (figura 1), refere-se a um conjunto de substâncias formado a partir de reações entre a hemoglobina A e alguns açúcares (NETTO et al., 2009). Apesar de ser uma denominação dessa substância, o termo "hemoglobina glicosilada" é utilizado de forma equivocada, uma vez que o processo de "glicosilação" de proteínas envolve uma ligação enzimática e instável, já o processo que ocorre com a hemoglobina A é de "glicação", ou seja, envolve uma ligação não enzimática e permanente com açúcares redutores como a glicose, formando a HbA_{1c} (NGSP, 2008).

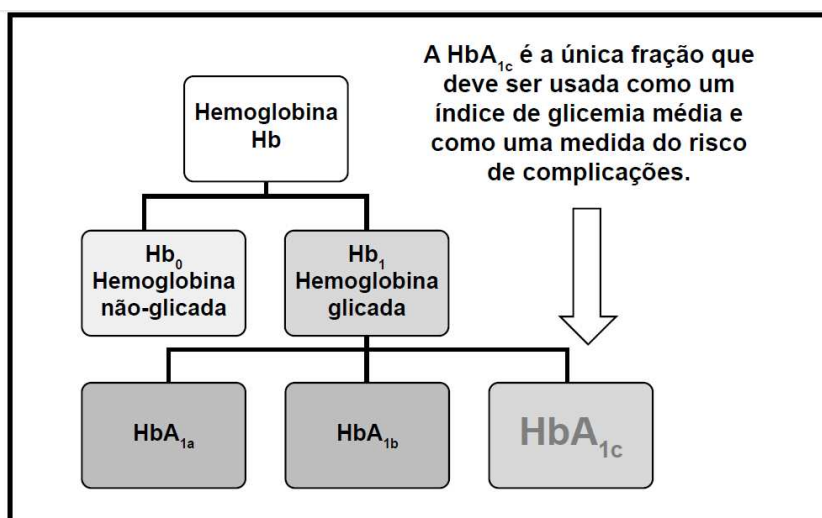


Figura 1. As diferentes frações da hemoglobina. Fonte: Netto et al. (2009)

As hemácias são permeáveis à molécula de glicose, sendo que a hemoglobina fica, praticamente, exposta às mesmas concentrações da glicose plasmática. A HbA_{1c} ou hemoglobina glicada se acumula dentro das hemácias, apresentando portanto, uma meia vida dependente da delas (SACKS, 2006).

O processo de glicação de proteínas não se restringe apenas à ligação da glicose com a hemoglobina. Esse processo estende-se a muitas proteínas do organismo, contribuindo para a geração dos chamados produtos finais da glicação

avançada, os quais desempenham papel fundamental no aumento do risco das complicações crônicas relacionadas à hiperglicemia (NETTO et al., 2009).

Outro teste que tem como base a glicação de proteínas, é a dosagem de frutossamina, sendo essa, resultante da interação entre a glicose plasmática e a lisina, presente na molécula de albumina e de outras proteínas. Esse teste reflete o controle glicêmico de curto prazo em relação à HbA1c, uma vez que a albumina (maior componente da frutossamina), possui uma meia vida curta, cerca de duas a três semanas (ADA, 2016).

2.4. Adipocinas e Proteínas de fase aguda

As citocinas são definidas como substâncias solúveis de baixo peso molecular sintetizadas por diversos tecidos, que medeiam a comunicação entre a célula sinalizadora e a célula alvo, via interações com receptores de alta afinidade da membrana celular, e podem atuar de forma autócrina, parácrina e endócrina na indução da expressão gênica, secreção de anticorpos e outras citocinas (TONET e NOBREGA, 2008).

Equinos obesos e idosos em comparação com equinos com menor adiposidade possuem maior quantidade de linfócitos e monócitos no sangue, que produzem mais citocinas inflamatórias, sugerindo um *cross-talk* molecular entre tecido adiposo e esses leucócitos (ADAMS et al., 2009).

Volp et al. (2008) observaram que no homem, a maior produção de citocinas se dá pelo tecido adiposo. Com isso, Hotamisligil et al. (1993) e Hotamisligil et al. (1995) já descreviam a presença do sinalizador proteico secretado pelo tecido adiposo (TNF- α), necessitando de uma nomenclatura para melhor defini-lo. Inicialmente deu-se o nome de adipocitocinas por Funahashi et al. em 1999. Esse termo foi atualizado para adipocinas, uma vez que, se refere a um termo universal adotado para descrever substâncias proteicas que são secretadas (e sintetizadas) pelo tecido adiposo, sendo esta proteína uma citocina ou não.

Essas adipocinas são marcadores que podem ser encontrados através de uma amostra de sangue, urina, ou amostra tecidual (CASELLA FILHO et al., 2003). Possuem diversas funções desde controle do apetite, homeostase energética, sensibilidade à insulina, angiogênese, proteção vascular, controle da pressão e coagulação sanguínea (GALIC et al., 2009).

Entre todas as adipocinas pautadas com processos inflamatório, IL-6, TNF- α , leptina e adiponectina vêm ganhando atenção especial nos últimos anos (WOOD et al., 2009; SIPPEL et al., 2014). A IL-6, TNF- α e leptina são adipocinas lançadas pelo

tecido adiposo, descritas com ação pró inflamatórias e geradoras de um quadro inflamatório considerado de baixo grau (CASELLA FILHO, 2007; GALIC *et al.*, 2009). A adiponectina com ação antiinflamatória é expressa em condições de baixa carga energética (TRAYHURN, 2013). Equinos obesos adultos possuem elevados níveis plasmáticos de TNF- α (ADAMS *et al.*, 2009)

Outro excelente parâmetro clínico epidemiológico é a PCR (GUPTA *et al.*, 2016). De acordo com os autores, a elevação dessa proteína de fase aguda, duas a três vezes acima dos valores de referência basais confirma o processo inflamatório crônico.

Mayer *et al.* (2010) afirmam que o TNF- α e a IL-6 são induzidos em conjunto na resposta inflamatória, e podem ter efeitos positivos e negativos para o organismo dependendo da quantidade e do sistema que os expressa. Ainda descrevem que o TNF- α , IL-1 e IL-6 induzem a síntese de PCR.

2.5. Resposta de Fase Aguda

A resposta de fase aguda é um mecanismo fisiopatológico de defesa associado à inflamação que, apesar do termo, ocorre tanto nas inflamações agudas quanto nas crônicas. Caracteriza-se pela variação (aumento ou diminuição) da concentração sérica de determinadas proteínas em decorrência de algum estímulo que cause injúria tecidual. Atualmente, opta-se por utilizar o termo biomarcador inflamatório ao se referir às proteínas envolvidas nessa resposta (NETO e CARVALHO, 2009).

A resposta de fase aguda pode resultar em variações de mais de 200 proteínas, que podem ser denominadas de proteínas de fase aguda positivas, quando há elevação das concentrações séricas, ou negativas, quando há diminuição (CRAY, ZAIAS e ALTMAN, 2009). De acordo com os autores, essas proteínas podem apresentar funções pró ou anti inflamatórias, e ainda, podem estimular ou inibir a produção de outras proteínas.

Uma vez que as alterações da concentração de proteínas de fase aguda acontecem poucas horas após o estabelecimento da inflamação (RUBIO *et al.*, 2014), estudos apontam sua eficácia como biomarcadores precoces para o diagnóstico e prognóstico de doenças na medicina veterinária (SIMPLÍCIO *et al.*, 2013). Contudo, muitos estudos ainda são realizados para descrever o comportamento dessas proteínas nas diferentes espécies animais diante das diversas doenças às quais estão submetidas, buscando compreender e detectar suas variações em cada caso.

A variação das proteínas de fase aguda ocorre precocemente quando comparada à leucocitose (figura 2), aumento da velocidade de hemossedimentação e/ou febre (JAIN, 1993). Entretanto, é considerada uma resposta inespecífica, pois desenvolve secundariamente e especificamente à diversas condições que podem ser capazes de produzir injúria tecidual (CERÓN et al., 2005), e por isso deve ser pesquisada em cada situação e/ou enfermidade individualmente.

Nos últimos anos, muito se avançou em relação às proteínas de fase aguda, sendo aplicada no monitoramento de animais de companhia ou animais para fins experimentais. A quantificação dessas proteínas no sangue é importante para se estabelecer diagnóstico, prognóstico e/ou monitorar o tratamento nestas espécies (MURATA et al., 2004).

A eletroforese consiste no método mais importante para identificar proteínas presentes no sangue (KANEKO, 2008). A eletroforese em acetato de celulose e em gel de agarose foram utilizadas para analisar as concentrações de proteínas séricas, mas essas técnicas são limitadas, porque podem identificar poucos grupos de proteínas (EDINGER et al., 1992).

Em contrapartida, a técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida com dodecilsulfato de sódio (SDS-PAGE), permite identificar uma maior quantidade de 20 frações proteicas, podendo separá-las claramente mesmo em quantidades pequenas (GORDON, 1975).

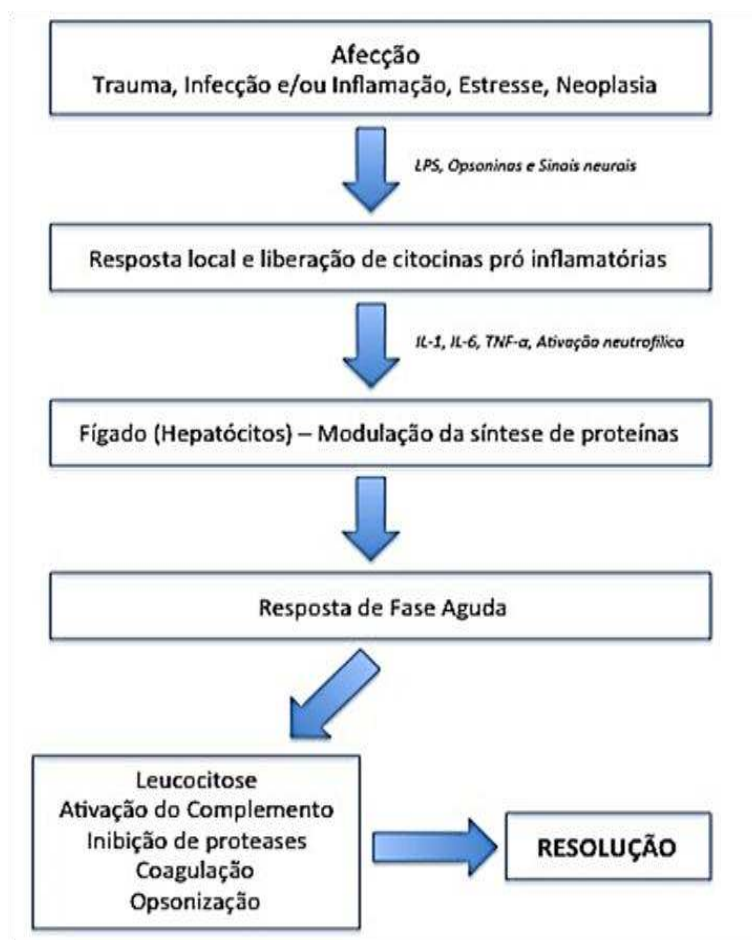


Figura 2. Demonstração esquemática da síntese de proteínas de fase aguda. Adaptado de Cray, Zaias e Altman, 2009.

A utilização das proteínas de fase aguda pode ser considerada uma das ferramentas laboratoriais mais promissoras na medicina veterinária. Embora os mecanismos fisiopatológicos envolvendo estas proteínas sejam conhecidos, ainda há desafios, como a padronização de técnicas e desenvolvimento de testes automatizados acessíveis financeiramente, tornando possível aplicá-las na rotina como biomarcadores de infecção, inflamação, neoplasias, entre outros (CERÓN et al., 2005; CRAY et al., 2009; ECKERSALL e BELL, 2010).

Segundo JAIN et al. (2011) as proteínas de fase aguda podem ser classificadas de acordo com sua concentração plasmática, quanto ao seu modo de ação e também de acordo com o mecanismo de síntese.

2.5.1. Classificação baseada na concentração plasmática

Proteínas de fase aguda negativas

Na inflamação o fígado responde produzindo um grande número de proteínas de fase aguda. Ao mesmo tempo, a produção de uma série de outras

proteínas é reduzida. Estas são conhecidas como proteínas de fase aguda negativas. Nesta categoria se enquadram a albumina, a transferrina, a transtiretina, a transcortina e a proteína de ligação do retinol (JAIN et al., 2011).

Proteínas de fase aguda positivas

São consideradas proteínas de fase aguda positivas, aquelas que apresentam elevação da concentração sérica durante a resposta inflamatória. A proteína C reativa, o dímero-D, a proteína ligadora de manose, a alfa-1 antitripsina, a alfa-1 antitripsina, a alfa-2 macroglobulina, o fibrinogênio, a protrombina, o fator VIII, o fator de Von Willebrand, o plasminogênio, os fatores do complemento, a ferritina, a amilóide A sérica, a ceruloplasmina, a haptoglobina e a glicoproteína ácida (CERÓN et al., 2005; KANECO et al., 2008, JAIN et al., 2011).

As proteínas de fase aguda positivas desempenham diversas funções fisiológicas para o sistema imunológico, como destruição ou inibição do crescimento de microorganismos, atuação nas situações de inflamação sistêmica associada à anorexia e alterações metabólicas (JAIN et al., 2011).

2.5.2. Classificação baseada no modo de ação

De acordo com Volanakis (2005), as proteínas de fase aguda podem ser divididas em quatro grupos em relação ao modo de ação;

Proteínas de defesa do hospedeiro: participam do reconhecimento e eliminação de patógenos; dentre elas, destacam-se a proteína C reativa, lectina ligadora de manose, proteína ligadora de lipopolissacarídeo, proteínas do complemento e fibrinogênio;

Inibidores de proteinases séricas: atuam na limitação do dano tecidual, neutralizando enzimas proteolíticas e metabólitos de oxigênio (α 1-antiproteinase, α 1-antitripsina, α 2-antiplasmina e inibidor do C1);

Proteínas de transporte com atividade antioxidante: responsáveis pela contenção da reação inflamatória e restauração da estrutura original lesada (ceruloplasmina, hemopexina e haptoglobina);

Outras proteínas de fase aguda: amilóide sérica A, antagonista do receptor de IL-1, glicoproteína ácida e fosfolipase A2.

2.5.3. Classificação baseada no mecanismo de síntese

Segundo Jain et al. (2011) as proteínas de fase aguda são produzidas devido

às reações inflamatórias de fase aguda, que estimulam a produção hepática pelos hepatócitos e/ou pela estimulação extra-hepática de células epiteliais, células endoteliais e tecido conectivo.

Há diferenças significativas em termos de cinética, intensidade e duração da resposta entre as proteínas de fase aguda (NETO e CARVALHO, 2009).

2.5.4. Proteínas de fase aguda negativas

Albumina

A albumina é uma proteína de fase aguda negativa, que tende a diminuir sua concentração sérica diante de um processo inflamatório. Isto ocorre devido à inibição da sua síntese pelas citocinas pró-inflamatórias e ao aumento da permeabilidade vascular, com consequente saída para os espaços extravasculares (THRALL, 2015).

É a proteína mais abundante no plasma, sintetizada no citoplasma dos hepatócitos, correspondendo a aproximadamente 35 a 50% da concentração de proteínas totais e tem um peso molecular de 66,4 kDa. A síntese de albumina é controlada pela pressão coloidosmótica, embora possa ser influenciada por hormônios como insulina, tirosina e cortisol. Apenas parte desta proteína está presente no sangue, o restante se encontra no espaço intersticial e seu catabolismo ocorre em diferentes tecidos como, músculo, fígado e rim. Outra função importante é o transporte de diversos metabólitos que circulam no sangue. Ácidos graxos, cálcio, colesterol, bilirrubina, circulam ligados à albumina, e além destes, diversos fármacos podem se ligar a esta proteína (ECKERSALL, 2010).

Transferrina

É uma proteína responsável pelo transporte de ferro no sangue e também é considerada uma proteína de fase aguda negativa nos mamíferos, mas a sua maior aplicabilidade diagnóstica está relacionada em mamíferos com doenças ligadas ao metabolismo do ferro (ECKERSALL, 2010). A transferrina possui vida média de aproximadamente oito a 10 dias e responde com rapidez a mudanças no estado nutricional, porém, seus níveis são afetados por várias doenças (FUHRMAN et al., 2004).

A transferrina está relacionada à imunidade inata por se ligar aos íons ferro prevenindo a proliferação de patógenos e parasitas que utilizam este nutriente. Concentrações diminuídas de transferrina podem ser consequência da produção inadequada desta proteína por lesão nos hepatócitos, doença renal, leucemias,

inflamação aguda e/ou crônica (MURATA et al., 2004).

2.5.5. Proteínas de fase aguda positivas

Ceruloplasmina

É uma glicoproteína com peso molecular de 151 kDa, fração α -1, descrita como uma proteína transportadora do cobre, essencial para a eritropoiese, com efeito antioxidante nas células e tecidos, a fim de protegê-los de compostos gerados pela fagocitose de microorganismos e debris de tecidos e redução de neutrófilos aderidos ao endotélio (CERÓN et al., 2005).

A elevação na sua concentração sérica revela uma resposta de fase aguda durante a inflamação, infecção e trauma como resultado do aumento da expressão gênica desta proteína em tecido hepático e extra-hepático, como baço, pulmão, testículo e cérebro (ECKERSALL, 2010).

Fagliari (2008) utilizou a eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) para monitorar os teores plasmáticos de proteínas de fase aguda de 20 equinos portadores de abdômen agudo, submetidos a laparotomia, dos quais dez se recuperaram sem intercorrência pós-operatória (G1) e os outros dez equinos foram a óbitos com sinais de choque séptico (G2) entre 7 a 10 dias após a cirurgia. O autor verificou que, dentre as proteínas, a haptoglobina e a ceruloplasmina são as melhores indicadoras no prognóstico para o estudo em questão, mostrando-se mais sensíveis.

α 1-antitripsina

A α 1-antitripsina é uma glicoproteína da família das inibidoras de proteases séricas sintetizadas, principalmente, pelo fígado e, em menor quantidade, pelos monócitos, macrófagos broncoalveolares e glândula mamária. A sua principal função é inibir a elastase dos neutrófilos, que, ao ser liberada nos locais de inflamação, promove destruição tecidual. A α 1-antitripsina é a proteína responsável pela maior parte da proteção antiproteásica do sistema respiratório e sua síntese é estimulada durante a resposta inflamatória aguda (ECKERSALL, 2010).

Em humanos, é possível observar uma deficiência desta proteína, sendo um distúrbio hereditário e muitas vezes letal. Nestes casos, os indivíduos desenvolvem doenças respiratórias graves e hepatite. No entanto, não há relatos disponíveis na literatura sobre esta condição em animais (CRYSTAL, 1990).

Di Filippo et al. (2011) analisaram as proteínas de fase aguda em equinos com cólica, submetidos à laparotomia, e que apresentavam lesões em intestino

delgado. Os autores verificaram o aumento nas concentrações séricas de α 1-antitripsina e justificaram a alteração em função da gravidade das lesões entéricas, uma vez que essa proteína é um componente importante para neutralizar as atividades das enzimas proteolíticas, durante o processo inflamatório agudo.

Haptoglobina

A haptoglobina pode ser secretada pelo fígado e tecido adiposo branco, e no homem a obesidade e o diabetes podem causar a elevação de seus índices plasmáticos, o que sugere que o processo inflamatório branco fruto do tecido adiposo pode elevar seu valor plasmático (BUENO, 2007).

É uma glicoproteína, formada por duas subunidades alfa e beta que se estabilizam ao ligarem-se especificamente à hemoglobina impedindo a formação de radicais livres, formando um complexo que será direcionado da circulação para o sistema fagocítico mononuclear onde ocorrerá a reciclagem do íon ferro durante o processo de hemocaterese e na defesa contra patógenos (ECKERSALL e BELL, 2010). É considerada uma das principais proteínas de fase aguda em todas as espécies (MARTINEZ-SUBIELA et al., 2001). Segundo CERÓN et al. (2005) a haptoglobina pode ser detectada na circulação 24 horas após o trauma e suas concentrações chegam ao pico máximo em quatro dias. Além da sua função como ligante de hemoglobina, pode atuar como fator estimulador de angiogênese, ademais de participar no metabolismo de lipídios e possuir um importante efeito imunomodulador, sendo responsiva à IL-6, IL-1 e TNF- α . Eckersall (2008), afirma que a haptoglobina pode apresentar, ainda, uma atividade antibacteriana indireta, uma vez que o complexo haptoglobina hemoglobina, reduz a disponibilidade do resíduo heme e seu íon ferro, para utilização bacteriana (ECKERSALL, 2008).

Bullone et al. (2015), mensuraram a concentração de haptoglobina e amilóide sérica A em equinos sadios e com doença inflamatória das vias aéreas, e concluíram que ambas podem ser utilizadas como biomarcadores de diagnóstico quando associados a outros achados clínicos e laboratoriais.

Glicoproteína ácida

Também chamada de alfa-1 glicoproteína ácida, essa proteína possui diversas funções tais como antiinflamatória e imunomoduladora, aumentando a secreção da IL-1. Dentre suas funções estão a inibição da resposta quimiotática e da produção de superóxidos por neutrófilos, a inibição da agregação plaquetária e a indução da liberação de citocinas de monócitos (IL-1 β , IL-6, IL-12, TNF- α)

(VOLANAKIS, 2005).

A elevação sérica da glicoproteína ácida depende do tipo de estimulação; geralmente inicia cinco dias após sua ativação, atingindo o pico máximo em sete dias. Em relação à magnitude de resposta, a glicoproteína ácida apresenta resposta moderada (CERÓN et al., 2005).

A glicoproteína ácida é composta por alta porcentagem de carboidratos e resíduos de ácido siálico, apresentando grande carga negativa e solubilidade em água. É sintetizada pelo fígado, granulócitos e monócitos. Durante a fase aguda inflamatória, ela sofre mudança do padrão de glicosilação, o que altera sua função biológica (VOLANAKIS, 2005).

Di Filippo et al. (2014), avaliaram a resposta de fase aguda em equinos submetidos à orquiectomia e verificaram aumento na concentração sérica de alfa-1 glicoproteína ácida e haptoglobina. De acordo com Busk et al. (2010), alterações nas concentrações de proteínas de fase aguda após procedimentos de orquiectomia são esperadas, visto que a técnica acarreta, aos tecidos envolvidos, um trauma cirúrgico severo. E segundo os mesmos autores, o conhecimento da resposta de fase aguda, frente a um pós-operatório sem intercorrências pode permitir o uso desses marcadores inflamatórios no diagnóstico precoce de complicações.

Proteína C Reativa (PCR)

A PCR pertence à classe de proteínas de fase aguda sintetizada principalmente pelo fígado (WINDGASSEN et al., 2011), entretanto, células endoteliais, monócitos, macrófagos, células musculares lisas e células epiteliais tubulares renais também podem sintetizá-la (ANSAR e GHOSH, 2013). Leclere et al. (2015), sugerem o pulmão como mais uma fonte da PCR.

Sua descoberta se deu em 1941 por Macleod e Avery que observaram uma proteína que necessitava de cálcio para reagir; no homem, é um dos biomarcadores mais expressivos associados à diversos processos inflamatórios, dentre esses, as desordens inflamatórias do tecido adiposo, e uma vasta gama de estímulos tendo ainda, sequencia homóloga entre os mamíferos (ANSAR e GHOSH, 2013). Yamashita et al. (1991), em estudos com equinos submetidos a estímulos inflamatórios, verificaram moderada elevação. Leclere et al. (2015), citam uma elevação e redução dos valores de normalidade mais lenta em equinos do que em outras proteínas de fase aguda.

A indução da expressão do RNA mensageiro para síntese de PCR hepática se dá principalmente através da elevação da citocina IL-6, na obesidade o infiltrado

inflamatório e os adipócitos lançam citocinas como a IL-6 e o TNF- α , estado inflamatório de baixo grau, que estimulam a síntese da PCR (MUHAMMAD et al., 2016). Ao mesmo tempo, a PCR atua estimulando os monócitos e macrófagos a induzirem a produção das citocinas IL-6 e TNF- α por meio da estimulação do fator de transcrição nuclear kappa- β , o que mantém ativa a retroalimentação (MAYER et al., 2010).

No homem a elevação ocorre cerca de 4 a 6 horas depois da inflamação e volta aos valores de normalidade rapidamente com a resolução do processo inflamatório (WINDGASSEN et al., 2011). A sua meia vida plasmática gira em torno de 19 horas, atuando nos processos de imunomodulação, com a ativação do complemento, modulação plaquetária e fagocitose (MAYER et al., 2010). Capacidade de aglutinação e morte bacteriana (ANSAR e GHOSH, 2013). Yamashita et al. (1991), observaram elevação 24 horas após estímulo inflamatório em equinos.

Gomes et al. (2010), relataram que a elevação do índice plasmático da PCR em humanos obesos está diretamente relacionada ao acúmulo de gordura visceral e abdominal. Windgassen et al. (2011), sugeriram a elevação relacionada à obesidade e as suas comorbidades; hipertensão, diabetes mellitus e síndrome metabólica, funcionando como uma ferramenta diagnóstica e prognóstica. Ansar e Ghosh (2013) por sua vez, mencionaram a aterosclerose, resistência à insulina e também a um variado número de enfermidades.

No quadro de resistência à insulina, o comprometimento do fornecimento de glicose para os tecidos resulta em um quadro de sofrimento celular que eleva o estresse oxidativo e também os valores de IL-6 e TNF- α . Esses fatores exercem efeitos seletivos na síntese de proteínas hepáticas, e por sua vez os valores elevados da IL-6 e do TNF- α advindos do tecido adiposo também são sugeridos como impeditivos da sinalização da insulina nas células (MUHAMMAD et al., 2016). A leptina também é uma adipocina de correlação positiva com a PCR e obesidade (CHOI et al., 2013; HRIBAL et al., 2014).

Uma outra sugestão ao quadro de resistência a ação da insulina nos tecidos, se dá em grande parte, pela presença de grandes quantidades de ácidos graxos livres que são lançados através da lipólise, que de forma simplificada impede a sinalização aos receptores de insulina e ao próprio GLUT-4, competindo com a glicose pelo acesso aos tecidos-alvo, isso ocorre principalmente na musculatura esquelética e no tecido adiposo (WOOD et al; 2009).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Verificar a influência do sobrepeso sobre o metabolismo glicêmico e biomarcadores inflamatórios em equinos da raça Mangalarga Marchador.

3.1. Objetivos específicos

Detectar possíveis variações nos níveis sanguíneos da adipocina leptina, outros parâmetros bioquímicos como glicose, frutossamina, hemoglobina glicosilada, insulina e proteínas de fase aguda em equinos hípidos, com escore de condição corporal normal e com escore de condição corporal elevado.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Comissão de Ética

O estudo experimental seguiu as Normas de Condutas para o Uso de Animais no Ensino, Pesquisa e Extensão do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa, o Código de Ética Profissional do Médico Veterinário, os princípios éticos para pesquisa animal estabelecidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal e a Legislação brasileira vigente. O delineamento experimental foi submetido à Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/UFV e devidamente autorizado pelo registro número 78/2015.

4.2. Local de Execução do Estudo

A pesquisa foi conduzida em Haras particular e no setor de equideocultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, localizados na Zona da Mata Mineira, no estado de Minas Gerais, cuja altitude é de aproximadamente 660 metros, e temperatura média anual de 22°C.

4.3. Delineamento Experimental

Foram utilizados no presente estudo 18 animais, 9 do grupo controle (C) - 6 machos castrados e 3 fêmeas e 9 do grupo sobrepeso (O) - 4 machos castrados e 5 fêmeas, da raça Mangalarga Machador, com idade entre 5 e 15 anos (dados obtidos através do histórico dos animais), peso corporal médio de 400 Kg (utilizando fita

métrica para pesagem). Foram realizados exame físico, hemograma e perfil bioquímico (ALT, AST, fosfatase alcalina, GGT com metodologia cinética) e (uréia e creatinina com metodologia colorimétrica) com o objetivo de atestar a sanidade geral dos animais. Também foi realizado anamnese para a verificação de história pregressa de cólica, claudicação e/ou laminite, os quais foram utilizados como critérios de exclusão dos animais. Os animais foram pesados com fita métrica e avaliados quanto ao escore de condição corporal e adiposidade regional por meio da circunferência do pescoço, descritos por Henneke et al. (1983), em uma escala de 1 a 9 de acordo com a visualização e palpação e Frank et al. (2006) utilizando a medida do comprimento do dorso do pescoço (cabeça à cernelha) e separando nas proporções de 25%, 50% e 75%, respectivamente.

Não houve modificações nos sistemas de manejo utilizados no Haras, a base da alimentação é a silagem de milho e pastagem de *Panicum maximum* (“capim-mombaça”), e no setor de equideocultura, a base da alimentação é ração balanceada produzida na própria Universidade, “capim-elefante” picado (*Pennisetum purpureum*) e pastagem de capim *Tifton sp.*, locais onde foram realizados os estudos.

Os animais foram distribuídos em dois grupos: o grupo C (controle) composto por animais dentro do peso normal e com escore de condição corporal ≤ 5 ; o grupo O (sobrepeso) formado por animais com escore de condição corporal ≥ 6 . Ambos os grupos foram, ainda, caracterizados por medições ultrassonográficas da gordura subcutânea da base da cauda, abdomen ventral e medição da circunferência do pescoço.

Após essa etapa, foram colhidas amostras de sangue por venopunção jugular, utilizando sistema à vácuo¹ em tubos estéreis contendo EDTA 10%, fluoreto de sódio e em tubo sem anticoagulante de cada animal, para posteriores análises. Todas as amostras foram devidamente alicotadas, identificadas, e refrigeradas à -20°C até o momento do processamento. Todas as coletas aconteceram no mesmo horário (8:00h), para não haver eventuais interferências.

A etapa do experimento do grupo com sobrepeso (Grupo O) ocorreu no dia 8 de agosto de 2016, com duração 4 horas, e início às 8:00h e término às 12:00h. Já a etapa do experimento do grupo controle (Grupo C) ocorreu no dia 21 de setembro de 2016, com duração de 4 horas e com início às 8:00h e término às 12:00h, em ambas etapas os animais foram monitorados pelos parâmetros clínicos descritos no item 4.4.

¹ Vacutainer, BD, Plymouth, Reino Unido.

4.4. Exame Clínico

O exame clínico de cada animal foi realizado da seguinte forma:

Anamnese: a identificação e o histórico do animal foram realizados conforme descrito por Speirs (1999);

Temperatura retal: mensurada em graus Celsius (°C) mediante a utilização de um termômetro de mercúrio² mantido intrarretal durante três minutos;

Coloração das mucosas (conjuntival e oral): avaliadas e classificadas em: hipocoradas, normocoradas, hipercoreadas ou cianóticas;

Frequência cardíaca: mensurada com um estetoscópio³ durante um minuto (batimentos por minutos – bpm), entre o 4º e 5º espaço intercostal esquerdo;

Frequência respiratória: mensurada por meio de observação dos movimentos costo-abdominais durante um minuto (movimentos por minuto – mpm);

Motilidade: realizada com estetoscópio⁵ nos flancos superiores e inferiores do abdômen, durante três minutos por quadrante, de acordo com a seguinte classificação: atonia, hipomotilidade, normomotilidade ou hiperomotilidade;

Tempo de enchimento capilar: foi feita uma pressão digital na mucosa gengival acima dos dentes incisivos superiores, em seguida, observou-se o tempo de enchimento total da mesma.

² Termômetro de mercúrio - Walmur. Shop Veterinário Ltda Me. Viçosa – MG.

³ Estetoscópio Cardiológico Premium. Shop Veterinário Ltda Me. Viçosa – MG.

4.5. Avaliação do escore de condição corporal e adiposidade regional

Foram realizadas duas avaliações para determinar o escore de condição corporal (figura 3 e quadro 1) e a adiposidade regional (figura 4), seguindo as recomendações de Henneke et al. (1983) e Frank et al. (2006), respectivamente.

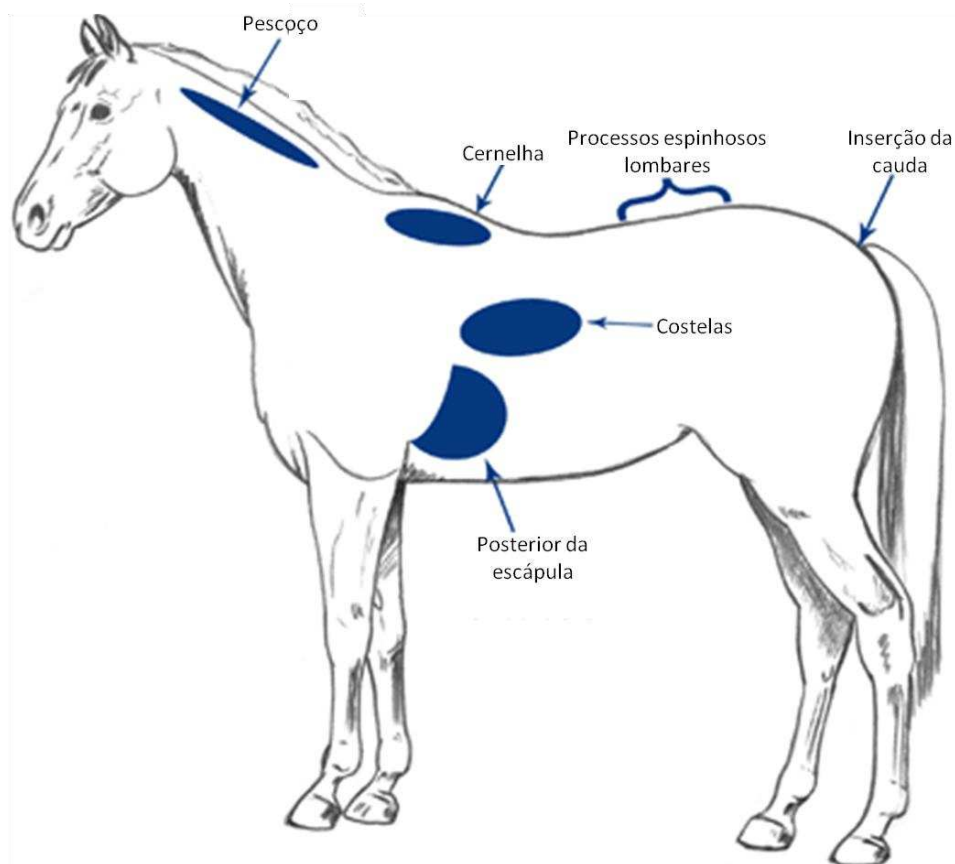


Figura 3. Áreas avaliadas para estimar a gordura corporal e escore de condição corporal. Adaptado de Henneke et al. (1983).

Quadro 1. Classificação do escore de condição corporal em equinos

Escore	Descrição
1	Emaciado: animal extremamente emaciado; processos espinhosos, costelas, inserção da cauda, estruturas da garupa e projeção do ísquio proeminentes; estruturas ósseas da cernelha, ombros e pescoço facilmente visíveis; o tecido adiposo não é palpável.
2	Muito magro: animal emaciado; fina camada de gordura cobrindo a base dos processos espinhosos, processos transversos das vértebras lombares arredondadas; processos espinhosos, costelas, inserção da cauda, estruturas da garupa e projeção do ísquio proeminentes; estruturas ósseas da cernelha, ombros e pescoço facilmente observadas.
3	Magro: gordura cobrindo cerca de metade dos processos espinhosos, processos transversos não são palpáveis; inserção da cauda proeminente, porém as vértebras não são mais observadas individualmente; estruturas da garupa arredondadas, entretanto, facilmente observadas; projeção do ísquio não visível; costelas, ombros e pescoço acentuados.
4	Moderadamente magro: sulco ao longo da região lombar; linha das costelas visível; gordura pode ser palpada na inserção da cauda de acordo com a conformação do animal; estruturas da garupa não são visíveis; costelas, ombros e pescoço não são facilmente visíveis.
5	Moderado: costelas não são observadas, porém, facilmente palpáveis; gordura na região da inserção da cauda começa a se tornar esponjosa; cernelha arredondada sobre os processos espinhosos; ombros e pescoço ligados suavemente ao corpo do animal.
6	Moderadamente gordo: pode haver pequena depressão na linha dorsal; gordura sobre as costelas se torna esponjosa; gordura na região da inserção da cauda se torna macia; gordura começa a ser depositada ao longo da cernelha, atrás dos ombros e ao longo do pescoço.
7	Gordo: pode haver uma depressão na linha dorsal; costelas podem ser individualmente palpáveis, porém, é possível sentir gordura entre elas; gordura na região da inserção da cauda se torna macia; gordura depositada ao longo da cernelha, atrás dos ombros e ao longo do pescoço.
8	Obeso: depressão na linha dorsal; dificuldade para palpar as costelas; gordura na região da inserção da cauda é muito macia; região próxima a cernelha preenchida com gordura; visível aumento na espessura do pescoço; gordura depositada nas nádegas.
9	Muito obeso: acentuada depressão na linha dorsal; gordura macia sobre as costelas; dobras de gordura na região de inserção da cauda, ao longo da cernelha, atrás dos ombros e ao longo do pescoço; gordura ao longo da parte interna das coxas; flanco preenchido com gordura.

Fonte: Henneke et al. (1983).

A mensuração da adiposidade regional foi realizada a partir da medição da circunferência do pescoço, conforme protocolo utilizado por Frank et al. (2006). Para isso, os animais foram mantidos com a cabeça normalmente elevada, em um

ângulo de 45°, na posição vertical e foi traçada uma linha reta da base do crânio até a cernelha. A circunferência do pescoço foi medida com uma fita métrica, perpendicularmente a essa linha, em três pontos diferentes (25%, 50% e 75%) a partir da cernelha. Foi calculado o valor médio da circunferência de cada animal (figura 4).

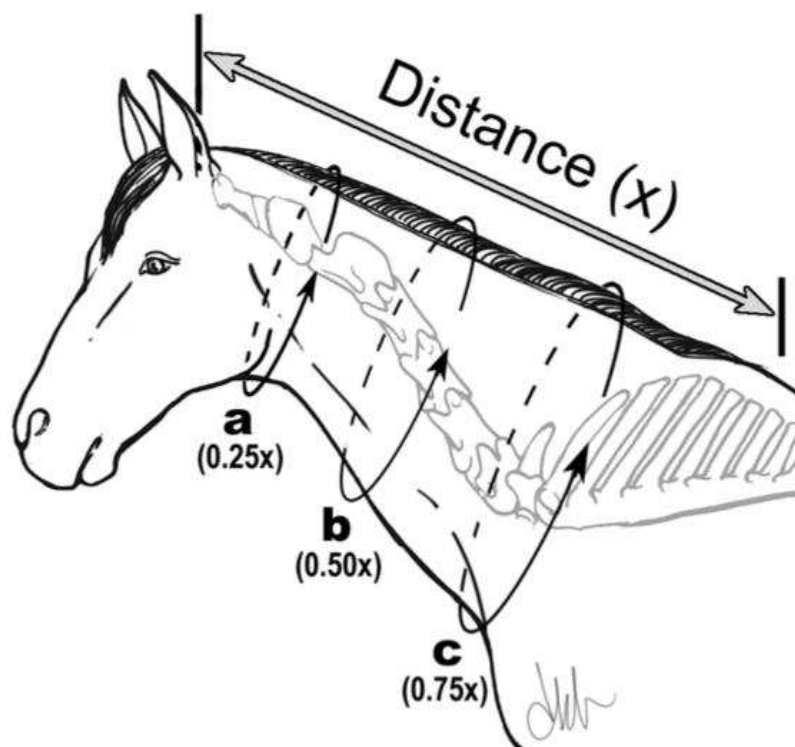


Figura 4. Esquema demonstrando os três diferentes pontos mensurados a partir da cernelha, utilizados no experimento.
Fonte: Frank et al. (2006)

4.6. Análises Laboratoriais

Foram realizados hemograma e exames bioquímicos de avaliação renal (uréia e creatinina) e hepática (ALT, AST, GGT, fosfatase alcalina, proteína total e frações) de todos os animais, por metodologia cinética e/ou colorimétrica e mensurados em equipamentos automatizados, para auxiliar no monitoramento do estado geral de saúde dos animais.

Foram mensurados os níveis plasmáticos de glicose (método colorimétrico⁴), hemoglobina glicada (separação por resina de troca iônica⁵) e os níveis séricos de frutossamina (método colorimétrico⁶). As dosagens de leptina (ELISA), insulina

⁴ Glicose Enzimática - In Vitro Diagnóstica Ltda. Itabira/MG, Brasil.

⁵ Glycohemoglobin HbA1 TEST - In Vitro Diagnóstica Ltda. Itabira/MG, Brasil.

⁶ QUIBASA Química Básica Ltda. Belo Horizonte/MG, Brasil.

(radioimunoensaio) e proteína C reativa (nefelometria) foram enviadas para processamento em um laboratório de apoio⁷.

As concentrações de proteínas totais do soro foram mensuradas pelo método de biureto (colorimetria⁸), com reagentes comerciais específicos e obtidas as leituras em espectrofotômetro automático.

Para o fracionamento dos diferentes constituintes proteicos do soro, foi realizada corrida eletroforética das respectivas amostras de soro em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE), conforme técnica descrita por Laemmli (1970) modificada. Para a corrida, utilizou-se o sistema vertical de eletroforese⁹ (figura 5).



Figura 5. Sistema vertical de eletroforese utilizado no experimento.

Fonte: Laboratório de Imunobiológicos

Após montado o aparato de sustentação do gel com espessadores de 1mm foi preenchida a placa com o gel de separação a 10% e, após polimerização, com o gel de empilhamento a 4%. Então, aguardou-se a polimerização final do material. O próximo passo consistiu no preparo das amostras para o fracionamento das proteínas. Para isso adicionou-se 10 μ L de soro sanguíneo, diluídos em 30 μ L de tampão-fosfato (PBS) e 20 μ L de gel mix e aquecido sobre água em ebulição por 10 minutos. Uma alíquota de 5 μ L de cada amostra de soro sanguíneo foi depositada em uma determinada cavidade do gel, tendo a primeira e a última amostra de cada

⁷ VetLab Laboratório Veterinário Ltda. Petrópolis/RJ, Brasil.

⁸ Proteína Total - In Vitro Diagnóstica Ltda. Itabira/MG, Brasil.

⁹ PROTEAN II XI - Vertical Electrophoresis Cells® - BIO-RAD, Brasil.

gel em duplicata, além da amostra padrão (marcador de peso molecular¹⁰) como referência.

Após colocadas as amostras, o conjunto da cuba foi submetido à corrente elétrica inicial de 20 mA por gel, fornecido por uma fonte de energia apropriada. Após a passagem das amostras do gel de empilhamento para o gel de separação, a corrente elétrica foi aumentada em 25% do valor inicial, perfazendo um total de 40mA.

Terminada a corrida, a fonte elétrica foi imediatamente desligada e o gel, retirado da placa para ser corado durante duas horas em solução de azul de Coomassie 0,2% sob agitação horizontal constante para uma coloração uniforme. Em seguida o gel foi submerso em solução descorante a base de metanol para retirar o excesso de corante, até que todo o gel se apresentasse nítido.

Os pesos moleculares e as concentrações das frações protéicas serão determinados por densitometria computadorizada (Software ImageJ), a partir do escaneamento das amostras. Para o cálculo do peso molecular foram utilizados marcadores de pesos moleculares de 200, 116, 97, 66, 55, 45, 36, 29, 24 e 20 kDa, além de proteínas purificadas. Para a avaliação densitométrica das bandas protéicas confeccionaram-se curvas de referência a partir da leitura do marcador padrão. O processamento das amostras ocorreu no Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa.

4.7. Análise Estatística

Foi realizada análise descritiva (média $\pm$ desvio padrão) das variáveis analisadas. Os dados obtidos foram submetidos aos testes de Lillefors para verificação da normalidade, e de Cochran e Bartellet para a homogeneidade de variância do erro. Os dados que atenderam as premissas para análise de variância (ANOVA), foram submetidos a esta, e comparados pelo teste F. Os dados que não atenderam as premissas, foram comparados pelo teste Wilcoxon. Foi considerada a significância de 5% de probabilidade de erro ($p < 0,05$), utilizando o programa estatístico SAEG (SAEG-UFV, 9.1, 2007).

¹⁰ Marcador Sigma Marker 6.5 – 200kDa. SIGMA-ALDRICH, Brasil.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os animais utilizados no experimento apresentaram exame clínico geral e exames laboratoriais de triagem (hemograma e bioquímica clínica de função renal e hepática) dentro dos parâmetros de referência descritos por Feitosa (2014) e Kaneko (2008).

Os valores médios e desvio padrão dos parâmetros ultrassonográficos da camada de gordura da base da cauda, abdômen ventral, medidas de circunferência do pescoço e escore de condição corporal estão descritos na tabela 1 e no anexo. Foi observada diferença estatística significativa para a avaliação ultrassonográfica da base da cauda, abdômen ventral e circunferência do pescoço entre o grupo de animais normais (Grupo C) e sobrepeso (Grupo O).

Tabela 1. Valores médios e desvio padrão das medidas utilizadas na caracterização do grupo controle (C) e grupo sobrepeso (O).

Parâmetros	Grupo C	Grupo O
	Média $\pm$ DP	Média $\pm$ DP
Escore de condição corporal (ECC)	4,0	7,0
US da base da cauda (cm)	0,64 $\pm$ 0,15 ^a	1,72 $\pm$ 0,36 ^b
US do abdômen ventral (cm)	0,86 $\pm$ 0,22 ^a	1,52 $\pm$ 0,37 ^b
Circunferência do pescoço (cm)	90,4 $\pm$ 7,0 ^a	97,9 $\pm$ 5,0 ^b

US (Ultrassonografia); Letras diferentes na mesma linha, indicam diferença estatística significativa entre os grupos ($p < 0,05$).

De acordo com Gobesso et al. (2014) da mesma forma que no homem a avaliação ultrassonográfica de massa muscular e de deposição de gordura subcutânea são excelentes parâmetros não invasivos da condição física de equinas, uma vez que, somente a avaliação do escore de condição corporal torna-se um recurso sujeito à dúvidas resumido a visualização e palpação, sendo assim, a mensuração de gordura subcutânea da garupa pode ser um excelente indicativo de gordura corporal, e pode ser utilizado como um instrumento adicional da avaliação do escore de condição corporal, auxiliando no controle nutricional e treinamento dos equinos.

Westervelt et al. (1976) iniciaram as primeiras mensurações de gordura corporal em equinos através da ultrassonografia na região da garupa. Gobesso et al. (2014) citam, que a porcentagem de gordura da garupa é um excelente indicativo de

gordura corporal não invasivo, sendo um instrumento de avaliação do escore de condição corporal, para controle da nutrição e treinamento dos equinos.

El-Maaty et al (2014), utilizaram 15 cavalos machos da raça árabe, com idade de 7 a 23 anos com média de escore de condição corporal 6,7. Os autores utilizaram a garupa para a marcação da espessura de gordura por ultrassom com média de 0,48 cm, valores inferiores aos nossos resultados (1,72 cm). Nesse aspecto é importante lembrar que se trata de equinos da raça árabe que se encontram dentro do escore adequado para a raça, dessa forma, o valor encontrado se aproxima ao valor do nosso grupo controle.

Em estudo Gentry et al (2004), utilizaram dieta e coleta de dados ao longo do tempo para verificação de deposição de gordura subcutânea sendo 24 éguas de raças variadas, 12 com média de escore de condição corporal, 8,0 a 8,5 e 12 com escore de condição corporal 3,0 a 3,5, um ponto estabelecido foi na parte plana da garupa encontrando valor médio inferior a 1 cm no final do experimento, possivelmente as variadas raças utilizadas no estudo podem ter influenciado nos valores encontrados, já que a espessura de gordura subcutânea é variável entre as raças.

Manso Filho et al. (2009) determinaram a espessura da camada de gordura na região da garupa em 121 equinos de diferentes raças e atividades, dentre essas o Mangalarga Marchador e Campolina treinados para marcha, com espessura de gordura de 1,30 cm, porém, não relataram o escore dos animais. Por utilizarem Mangalarga Marchador, os valores se aproximaram com o nosso estudo para grupo sobrepeso, e os autores justificaram que por serem animais atletas necessitam de reserva de gordura para disponibilizar energia durante esse tipo de exercício.

Paz et al. (2013) pesquisaram a relação entre obesidade, insulina plasmática e posicionamento da falange distal em 30 éguas da raça Crioula. Para isso, os autores consideraram dois grupos com base no ECC, sendo um grupo de indivíduos normais (ECC 5-7) e outro de obesos (ECC 8-9). Diferenças estatísticas entre grupos ocorreram para circunferência do pescoço, seguindo a mesma metodologia adotada por Frank et al. (2011), assim como demonstrado em nosso trabalho, corroborando que essa medida pode ser um parâmetro importante na mensuração da adiposidade.

Os valores médios e desvios padrão das dosagens de glicose, frutossamina, HbA1c, leptina e insulina estão descritos na tabela 2. Foi observada diferença estatística significativa para a avaliação das concentrações de frutossamina, HbA1c e leptina entre o grupo de animais normais (Grupo C) e sobrepeso (Grupo O).

Tabela 2. Valores médios e desvio padrão das dosagens bioquímicas e hormonais de equinos do grupo controle (C) e grupo sobrepeso (O).

Parâmetros	Grupo C	Grupo O
	Média $\pm$ DP	Média $\pm$ DP
Glicose (mg/dL)	70,3 $\pm$ 7,7 ^a	71,1 $\pm$ 9,5 ^a
Frutosamina (μ mol/L)	222,8 $\pm$ 14,8 ^a	284,1 $\pm$ 19,1 ^b
HbA1c (%)	13,1 $\pm$ 1,0 ^a	17,3 $\pm$ 2,1 ^b
Leptina (ng/mL)	0,7 $\pm$ 0,2 ^a	1,5 $\pm$ 0,3 ^b
Insulina (mUI/mL)	1,0 $\pm$ 0,6 ^a	1,54 $\pm$ 0,6 ^a

Letras diferentes na mesma linha, indicam diferença estatística significativa entre os grupos ($p < 0,05$).

Glicose

Os valores encontrados para concentração plasmática de glicose foram de 71 mg/dl para o grupo com sobrepeso e de 70,3 mg/dl para grupo controle. Não foi observada diferença estatística significativa entre os grupos.

Nos equinos, assim como em humanos, a disfunção do transporte de glicose (GLUT-4) ou em receptores de superfície para insulina, estão associados com a resistência à insulina principalmente no tecido adiposo e no músculo esquelético (KRONFELD et al. 2005). Porém, a maioria dos autores relatam sobre a expressão da proteína Glut-4, limitada ao metabolismo da glicose e a sua expressão na musculatura esquelética e sua relação com o exercício (LACOMBE et al., 2003).

De acordo com Malazdrewich (2007), em equinos, o sobrepeso parece estar relacionado com o início da síndrome metabólica. Uma das causas sugeridas para o desencadeamento da resistência à insulina é que certas células de gordura induzem a produção de hormônios, dentre eles, o cortisol, que interferem com a habilidade da insulina em mover a glicose para dentro da célula. Como cavalos obesos possuem mais adipócitos, mais cortisol é produzido, gerando maior interferência na insulina. Porém, o mesmo autor relata que nem todo cavalo obeso possui hiperinsulinemia e/ou hiperglicemia, devido à efetividade da homeostase glicêmica dessas duas substâncias.

Da mesma forma, os valores de insulina e glicose são variáveis entre os indivíduos, tipo de alimento e em países temperados podem sofrer variação climática (Borer *et al*; 2015). Carter *et al.* (2009b), obteve valor de glicose de 94,2 mg/dl para equino, e 93,8 mg/dl para pôneis com sobrepeso. Bruynsteen *et al.* (2013) avaliaram equinos obesos e com sobrepeso, de raças europeias variadas, e encontraram níveis plasmáticos de glicose de 106 ± 16 mg/dL. Bamford *et al.* (2015), utilizaram 12 cavalos da raça Andaluz e 6 pôneis da raça Standardbred com média de escore corporal 4,9; para indução da elevação do escore de condição corporal através de dietas ricas em carboidrato e gordura, durante 20 semanas. Ao final do experimento os autores verificaram média de escore de condição corporal maior igual a 7, com média de glicose plasmática de 90mg/dl para grupo com dieta isocalórica de gordura vegetal, 91mg/dl para dieta rica em carboidratos, não foram observadas diferenças estatísticas, porém, foi observado em teste que a disposição de glicose foi mais ativa na dieta com carboidratos. Esses estudos vão de encontro ao nosso, demonstrando que apesar da elevação do escore de condição corporal e da dieta, os níveis plasmáticos de glicose se encontram dentro do intervalo de referência proposto por Kaneko (2008) para a espécie (70 a 115 mg/dL), o que afirma que a normoglicemia é mantida mesmo em condições adversas de sobrepeso com dieta hipercalórica, garantindo a homeostase. Entretanto, é importante ressaltar que a dosagem de glicose por si só, reflete apenas a concentração da mesma no momento da coleta, não refletindo as eventuais flutuações que possam ocorrer durante um intervalo de tempo.

Frutosamina

Os níveis séricos de frutosamina encontrados foram significativamente mais elevado nos animais com sobrepeso, quando comparados ao grupo controle. De acordo com Pattullo e Kidney (2014), o sobrepeso em seres humanos e animais continua a aumentar, assim como a investigação dos efeitos da obesidade e/ou sobrepeso sobre o organismo. Os autores relatam, ainda, que foi observado um aumento dos níveis séricos de frutosamina em cães obesos e normoglicêmicos quando comparados à animais de peso normal. Esse aumento foi detectado também em felinos nas mesmas condições, de acordo com os autores.

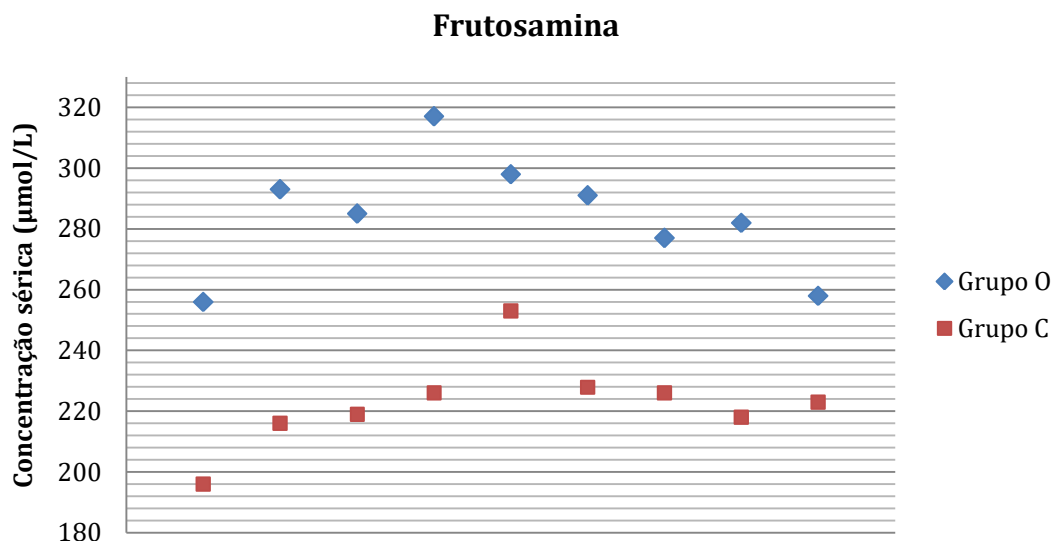


Figura 6. Gráfico das concentrações séricas de frutosamina por animal utilizado no experimento.

Knowles et al. (2012) pesquisaram as concentrações séricas de frutosamina em cavalos com laminite. Os valores encontrados foram significativamente maiores em animais com a enfermidade quando comparados ao grupo controle de animais sem laminite. Segundo os autores, os motivos para essa alteração, não está completamente esclarecida. As alterações na glicemia podem estar associadas a fatores nutricionais e/ou uma redução na ação da insulina. A redução da ação da insulina pode resultar de uma resposta tissular reduzida (como ocorre na resistência à insulina), insuficiência na secreção de insulina ou uma combinação de ambas, conforme descrito também por Firshman e Valberg (2007).

O estudo relatado por Knowles et al. (2012), conclui que valores significativamente maiores em equinos com laminite, podem representar anomalias de médio prazo na glicemia, podendo ser, inclusive, utilizado como potencial biomarcador.

Os níveis séricos de frutosamina encontrados em nosso trabalho foram maiores no grupo O, demonstrando que além de ser uma consequência do aumento de adiposidade, os níveis elevados de frutosamina podem predispor os animais desse grupo à laminite.

Por fim, a frutosamina não pode ser considerada apenas um marcador de hiperglicemia. As concentrações séricas de proteínas glicadas podem estar aumentadas ou diminuídas em diversas situações e enfermidades. No entanto, ainda é pouco estudada e merece maior atenção.

Nossos valores sugerem que a dieta hipercalórica oferecida aos animais do grupo O, pode interferir na glicação de proteínas, principalmente albumina, gerando a diferença encontrada entre os grupos.

Hemoglobina glicada (HbA1c)

Não foi encontrado na literatura valores de referência de HbA1c em equinos, apenas um relato de caso de insuficiência beta pancreática em um animal da raça Mustang que apresentou hiperglicemia importante, porém, sem elevação plasmática da HbA1c (JOHNSON et al., 2005).

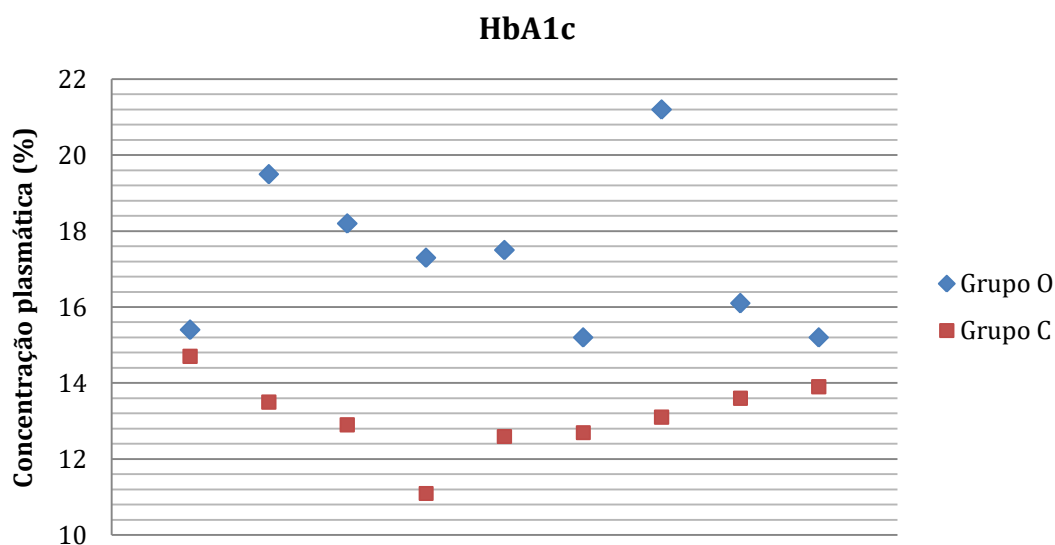


Figura 7. Gráfico das concentrações plasmáticas de HbA1c por animal utilizado no experimento.

Segundo Netto et al. (2009) a HbA1c tem sido considerada como uma representação da média das glicemias diárias (incluindo glicemias de jejum e pós-prandial) durante os últimos meses. A glicação da hemoglobina ocorre ao longo de todo o período de vida das hemácias, que no equino é de, aproximadamente, 140 dias. Porém, nesse período, a glicemia recente é a que mais influencia o valor da HbA1c.

Modelos teóricos e estudos clínicos sugerem que um indivíduo apresenta 50% da HbA1 formada no mês que precede o exame, 25% no mês anterior a este e os 25% remanescentes no terceiro ou quarto mês antes do exame (CHANDALIA e KRISHNASWAMY, 2002)

De acordo com Netto et al. (2009), os níveis plasmáticos de HbA1c não retornam ao normal imediatamente após a normalização dos níveis de glicose, demorando aproximadamente oito a dez semanas, para serem totalmente normalizados. Portanto, para uma avaliação da eficácia do tratamento, os níveis de

HbA1c deverão ser avaliados após um a dois meses do início da terapia e/ou modificação da dieta.

Nossos valores sugerem que a dieta hipercalórica oferecida aos animais do grupo O, pode interferir na glicação da hemoglobina e consequente diferença encontrada entre os grupos. Também se deve ressaltar a importância de estudos utilizando as proteínas glicadas, para melhor entendermos o comportamento da glicose em diferentes condições.

Leptina

A hiperleptinemia no equino está correlacionado com elevação da adiposidade. Os valores encontrados em nosso estudo foram 1,5 ng/ml para o grupo de equinos com sobrepeso e 0,7 ng/ml para o grupo controle, corroborando com autores que afirmam que a leptina aumenta em animais conforme o aumento de adiposidade. Os valores descritos por outros autores são superiores aos encontrados em nosso trabalho, apesar disso, houve diferença estatística significativa entre os grupos, o que confere a importância da mensuração desse hormônio em diferentes experimentos, além do quadro de sobrepeso, e também há a necessidade de se estabelecer valores de referência para a espécie em questão.

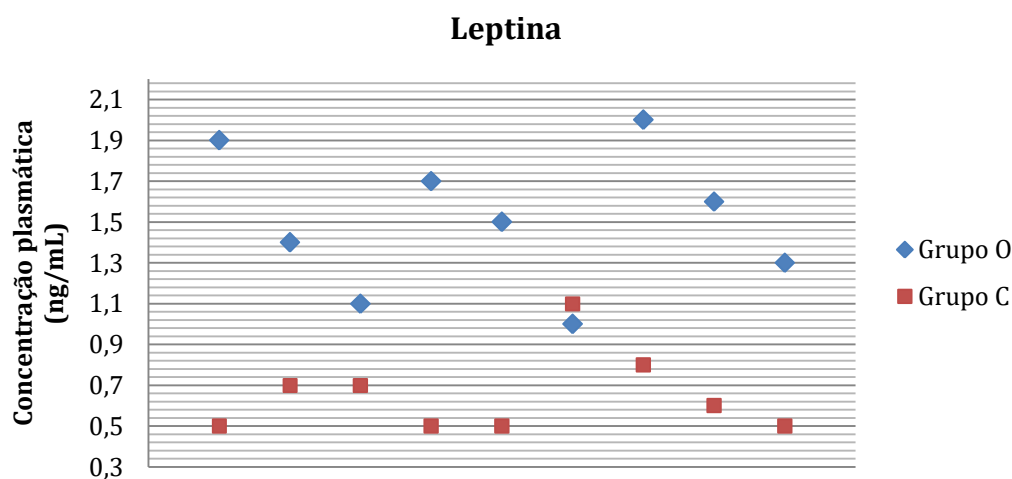


Figura 8. Gráfico das concentrações plasmáticas de leptina por animal utilizado no experimento.

Carter et al. (2009a), no estudo de pontuação para a avaliação da adiposidade do pescoço observou valores plasmáticos para leptina de 3,8 ng/mL para equinos com sobrepeso. Pleasant et al. (2013), encontraram valor médio de leptina de 3,5 ng/mL. Ambos autores citam que a elevação plasmática desse

hormônio está relacionada a resistência à insulina em cavalos com sobrepeso. Bruynsteen et al. (2013), para controle de estudo da expressão adipocinas em diferentes locos adiposos em equinos com sobrepeso de variadas raças europeias observaram valor plasmático médio de 3,3 ng/mL, com expressão significativa do gene da leptina para o tecido adiposo localizado na cernelha. Gimenez et al. (2016), compararam a concentração plasmática de leptina com medições morfométricas e ultrassonográfica do pescoço de equinos da raça Andaluz de diferentes escores de condição corporal e verificaram uma elevação na concentração plasmática de leptina (5,03ng/mL) nos animais com sobrepeso e obesos, o que segundo os autores é justificado pela raça Andaluz que pode ter valor de corte mais elevado; outra possibilidade descrita pelos autores é em relação à adiposidade na região da cernelha contribuindo para elevação da leptina, justificando os achados de Bruynsteen et al. (2013). Por sua vez, Bamford et al. (2015), no estudo já descrito acima observaram ao final do experimento uma concentração média de 6,5 ng/mL para o grupo com dieta rica em gordura, e 6,7 ng/mL para a dieta hiperglicemiante, além disso, os autores detectaram claramente que esses animais elevaram a massa adiposa corporal elevaram a concentração de leptina plasmática, sendo essa proporcional à massa adipocitária, assim, o grupo controle que não sofreu alteração de dieta consequentemente mantiveram a concentração de massa gordurosa e obtiveram concentrações médias de 2,0 ng/mL. Dessa forma, é importante ressaltar que os valores de leptina podem variar entre as raças o que pode ser justificado no estudo de Gimenez et al. (2016), também pode sofrer elevação em resposta a obesidade como observado por Bamford et al. (2015). Sendo o principal sinal ao sistema nervoso central de ajuste da adiposidade (MANCINI 2015). Além disso, a leptina no homem é reconhecida como um dos mecanismos de regulação neuroendócrina responsáveis pela saciedade, trabalhando no acréscimo do gasto energético aumentando o metabolismo de repouso e em parceria com a insulina atua no hipotálamo induzindo a diminuição da ingestão alimentar (MANCINI 2015). Assim, os seus valores podem flutuar de acordo com a quantidade e qualidade nutricional da dieta utilizada. Pleasant et al. (2013), citam a influencia da hiperinsulinemia na elevação da leptina. Em nosso estudo a ocorrência da normoinsulinemia é um fator pré determinante para justificar o sobrepeso como causa da elevação Portanto, todas as observações descritas justificam a diferença estatística observada entre os animais com sobrepeso e os do grupo controle, o que ressalta a importância da mensuração desse hormônio na clínica de equídeos.

Insulina

Os resultados de insulina sérica encontrados em nosso trabalho não apresentaram diferença estatística significativa entre os grupos; o grupo com sobrepeso apresentou valores médios de 1,54 mUI/ml e o grupo controle de 1,0 mUI/ml, sendo inferiores aos encontrados por outros autores.

Paz et al. (2013), observaram elevação dos valores médios de insulina de 2,36 mUI/mL para animais estróficos e 2,55 mUI/mL para obesos, entretanto, sem diferença estatística entre os grupos. Os autores sugeriram que o tempo para as análises das amostras, metodologia de dosagem de insulina em diferentes tempos e a ausência de estudos sobre a insulinemia na raça crioula dificultaram a justificativa dos valores encontrados.

Carter et al. (2009b), selecionaram 109 animais, 34 equinos com ECC médio de 6 e 75 pôneis com ECC médio de 7, machos e fêmeas de variadas idades, que apresentaram concentrações séricas de 9,6 mUI/ mL em média para equinos e 16,0 mUI/ mL para pôneis.

Bamford et al. (2015), no experimento citado acima observaram média de insulina de 4,6 mUI/mL para dieta gordurosa e de 8,5mUI/mL para dieta hiperglicemiante com carboidratos, os autores observaram diferença estatística para o segundo grupo. Os mesmos autores avaliaram a resistência à insulina em teste de resposta aguda da insulina à glicose, e observaram que a indução de obesidade por dieta durante os 20 dias de experimento não afetaram a resposta a esse hormônio, pelo contrário, no grupo com dieta hiperglicemiante houve elevação da sensibilidade à insulina celular, entretanto, os autores não excluem a possibilidade dos mecanismos regulatórios humorais e celulares descompensarem com o maior tempo de exposição à obesidade e maiores concentrações de açúcar.

Gimenez et al. (2016), avaliaram 127 cavalos, 78 machos e 49 fêmeas, com idade entre 2 e 15 anos, com média de escore corporal 6.06, da raça Andaluz e obtiveram concentrações de insulina 3,74 mUI/ mL.

Carter et al. (2009b), sugerem que alterações no balanço energético em equinos interferem nos valores de insulina sistêmico, essas alterações variam de acordo com o escore de condição corporal, composição dietética e em países temperados pode variar de acordo com a sazonalidade, por mudanças na composição da pastagem.

Dessa forma, podemos concluir que valores de referência para dosagem sérica de insulina precisam ser melhor estabelecidos no país e/ou regionalmente, pois podem sofrer influências de dieta, raça, ECC, sazonalidade e localidade.

Da mesma forma que a glicose, a insulina no nosso experimento se mostrou discretamente elevada no sobrepeso mas estatisticamente estável, mesmo sendo um importante hormônio dinâmico no ganho de massa adiposa, atuando no metabolismo de gordura estimulando a modificação de pré-adipócitos em adipócitos. Possivelmente a introdução de refeições diárias ricas carboidratos estruturais poderiam causar uma sobrecarga energética acarretando na desregulação dos receptores de insulina nas células ou mesmo induzir a hiperinsulinemia compensatória pelo pâncreas. Essa elevação da insulina em pôneis é um fator predisponente à ocorrência de laminite (CARTER et al; 2009b). Pleasant et al. (2013), também falam da importância da correlação da hiperinsulinemia com a ocorrência de laminite e fortalecem a importância da mensuração desse parâmetro.

Os valores médios e desvios padrão das concentrações séricas de proteínas de fase aguda estão descritos na tabela 3. Foi observada diferença estatística significativa nas concentrações séricas de ceruloplasmina, α 1-antitripsina e haptoglobina entre o grupo de animais controle (Grupo C) e sobrepeso (Grupo O).

Tabela 3. Valores médios e desvio padrão das concentrações séricas de proteínas de fase aguda de equinos do grupo controle (C) e grupo sobrepeso (O).

Parâmetros	Grupo C	Grupo O
	Média $\pm$ DP	Média $\pm$ DP
Proteína total (mg/dL)	6988,9 $\pm$ 619,4 ^a	7311,1 $\pm$ 544,2 ^a
IgA (mg/dL)	170,3 $\pm$ 36,3 ^a	204,7 $\pm$ 76,1 ^a
Ceruloplasmina (mg/dL)	66,7 $\pm$ 26,9 ^a	104,3 $\pm$ 44,5 ^b
Transferrina (mg/dL)	370,2 $\pm$ 207,8 ^a	362,7 $\pm$ 153,1 ^a
Albumina (mg/dL)	3102,6 $\pm$ 240,2 ^a	2924,7 $\pm$ 367,7 ^a
α 1-antitripsina (mg/dL)	18,3 $\pm$ 12,4 ^a	357,9 $\pm$ 56,0 ^b
IgG (mg/dL)	1627,9 $\pm$ 264,6 ^a	1489,9 $\pm$ 256,9 ^a
Haptoglobina (mg/dL)	152,7 $\pm$ 48,9 ^a	231,5 $\pm$ 46,3 ^b
Glicoproteína ácida (mg/dL)	86,1 $\pm$ 27,7 ^a	79,7 $\pm$ 33,5 ^a
PCR (mg/dL)	0,75 $\pm$ 0,1 ^a	0,73 $\pm$ 0,2 ^a

Letras diferentes na mesma linha, indicam diferença estatística significativa entre os grupos ($p < 0,05$).

Apesar da elevação nas concentrações séricas de ceruloplasmina, α 1-antitripsina e haptoglobina no grupo sobrepeso, não foram observadas alterações leucocitárias quantitativas e qualitativas (anexo). Segundo FAZIO et al. (2010), o

organismo responde à inflamação promovendo modificações na contagem de leucócitos e induzindo estas células a liberarem mediadores (TNF- α , IL-1 e IL-6) da síntese de proteínas de fase aguda.

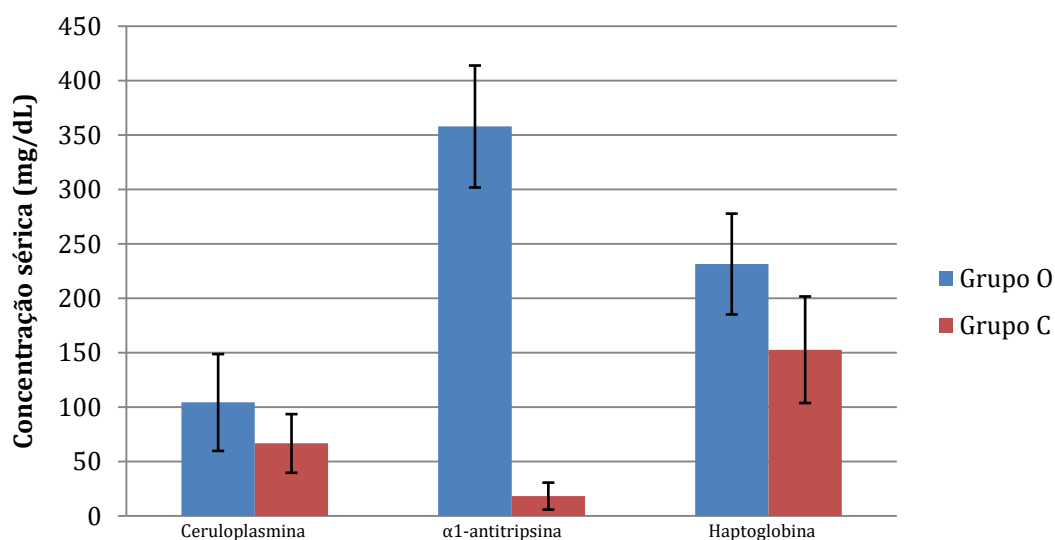


Figura 9. Gráfico das concentrações plasmáticas de proteínas de fase aguda (média e desvio padrão) que apresentaram diferença estatística entre os grupos.

De acordo com Eckersall (2010), em equinos, as proteínas amilóide sérica A, glicoproteína ácida, haptoglobina e ceruloplasmina são consideradas as mais importantes. Destas, a amilóide sérica A é uma proteína de fase aguda maior, enquanto as demais (glicoproteína ácida, haptoglobina e ceruloplasmina) são proteínas de fase aguda moderadas. As proteínas de fase aguda moderadas, respondem a estímulos com uma elevação de 5 a 10 vezes sua concentração, durante a ativação, alcançando pico após 2 a 3 dias e diminuem sua resposta mais lentamente que as proteínas de fase aguda maiores.

A ceruloplasmina é uma enzima com papel de eliminar radicais livres, possuindo ainda, atividades de ferroxidase, cuproxidase, superóxido-dismutase, peroxidase glutathione dependente e NO-oxidase. A ceruloplasmina equina é classificada como uma α 2-globulina. Segundo Murata et al. (2004) e Cerón et al. (2005), as α 2-globulinas são induzidas pela IL-6, elevam-se mais tardiamente e, assim permanecem por várias semanas.

Fagliari e Silva (2002), Saquetti et al (2008), Di Filippo et al (2010) e Nogueira (2014), observaram aumento das frações ceruloplasmina, haptoglobina e glicoproteína ácida em equinos com cólica submetidos à laparotomia para correção de torção de cólon maior, compactação de cólon maior e encarceramento

nefroesplênico de cólon maior, demonstrando que essas frações são importantes no monitoramento das reações inflamatórias de fase aguda em equinos.

6. CONCLUSÕES

Algumas raças de equinos associadas ao ambiente de manejo podem ser mais predispostas à obesidade e suas comorbidades, a gordura depositada é a imagem da falta de balanceamento entre ingestão e gasto energético

Nas condições do presente experimento é possível concluir que a dosagem de leptina plasmática é um bom indicador em equinos da raça Mangalarga Marchador que apresentam quadro de sobrepeso.

As dosagens de frutossamina e HbA1c, fornecem dados mais precisos quanto à variação glicêmica pregressa ao momento da coleta e, portanto, reflete melhor o histórico do metabolismo energético dos animais.

Glicose e insulina, apesar de não demonstrarem diferença estatística, são parâmetros que devem ser avaliados em conjunto com as proteínas glicadas, para se excluir qualquer interferente correlacionado à variação glicêmica.

O aumento nas concentrações séricas de ceruloplasmina, haptoglobina e $\alpha 1$ -antitripsina nos animais com sobrepeso sugerem que adipocinas pró inflamatórias e efeitos danosos dos radicais livres possam atuar induzindo a liberação das mesmas, uma vez excluídas outras possíveis causas inflamatórias.

A haptoglobina em especial pode estar relacionada ao processo inflamatório brando gerado pelo tecido adiposo.

As medidas de adiposidade regional também apresentaram diferença estatística, demonstrando a importância do uso da ultrassonografia na mensuração da adiposidade subcutânea em equinos, destacando que indivíduos com sobrepeso podem ter diferentes espessuras de gordura subcutânea, sendo a ultrassonografia uma importante ferramenta no auxílio da mensuração do escore de condição corporal, este que se limita à visualização e palpação cutânea.

Portanto, estudos em equinos com sobrepeso devem ser incentivados em diferentes raças, dietas, condições climáticas e em condições de comorbidades, para melhor entendermos o comportamento do sobrepeso assim como se faz na medicina humana.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, A. A.; KATEPALLI, M. P.; KOHLER, K.; REEDY, S. E.; STILZ, J. P.; VICK, M. M.; FITZGERALD, B. P.; LAWRENCE, L. M.; HOROHOV, D. W. Effect of body

condition, body weight and adiposity on inflammatory cytokine responses in old horses. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, v.127, p. 286–294, 2009.

ADYA, R; HOMER-VANNIASINKAM, S. Adipokines and adipose tissue angiogenesis in obesity. *Immunoendocrinology*, n. 2, p. 1-7, 2015.

ALVEZ, M.N.R. Os efeitos da obesidade na resposta imune. *Revista Brasileira de Nutrição Clínica*, v. 21, n. 4, p. 316-319, 2006.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION (ADA). Fructosamine test. Acesso em: 21 nov. 2016.

ANSAR, W; GHOSH, S. C-reactive protein and the biology of disease. *Immunologic Research*, v.56, p.131-142, 2013.

BAMFORD, N. J.; POTTER, S. J.; HARRIS, P. A.; BAILEY, S. R. Effect of increased adiposity on insulin sensitivity and adipokine concentrations in horses and ponies fed a high fat diet, with or without a once daily high glycaemic meal. *Equine Veterinary Journal*, p. 368-373, 2015.

BANSE, H. E; FRANK, N; KWONG, G. P. S; MCFARLANE, D. Relationship of oxidative stress in skeletal muscle with obesity and obesity-associated hyperinsulinemia in horses. *The Canadian Journal of Veterinary Research*, v. 79, p. 329-338, 2015.

BENATTI, F.B.; LANCHA, A.H.J. Leptina e exercício físico aeróbio: implicações da adiposidade corporal e insulina / Leptin and endurance exercise: implications of adiposity and insulin. *Revista Brasileira de Medicina e Esporte*, vol.13, n.4, p. 263-269, 2007.

BORER, K. E.; BAILEY, S. R.; MENZIES-GOW, N. J.; HARRIS, P. A.; ELLIOTT, J. Effect of feeding glucose, fructose, and inulin on blood glucose and insulin concentrations in normal ponies and those predisposed to laminitis. *Journal of Animal Science*, v. 90, p.3003-3011, 2015.

BRANDI, R. A.; FURTADO, C.E. Importância nutricional e metabólica da fibra na dieta de equinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, p. 246-258, 2009.

BUENO, A. A.; Lipídios da dieta alteram a expressão gênica de adipocinas: estudo in vivo e in vitro. Repositório institucional UNIFESP, 2007.

BRUYNSTEEN, L.; ERKENS, T.; PEELMAN, L. J.; DUCATELLE, R.; JANSSENS, G. P.J.; PATRICIA A HARRIS, P. A.; HESTA, M. Expression of inflammation-related genes is associated with adipose tissue location in horses. *BMC Veterinary Research*, v. 240, n. 9, p. 1-9, 2013.

BRUYNSTEEN, L.; JANSSENS, G. P. J.; HARRIS, P. A.; DUCHATEAU, L.; VALLE, E.; ODETTI, P.; VANDEVELDE, K.; BUYSE, J.; HESTA, M. Changes in oxidative stress in response to different levels of energy restriction in obese ponies. *British Journal of Nutrition*, v. 112, p 1402-1411, 2014.

BULLONE, M., LAGARDE, M., VARGAS, A., LAVOIE, J. P. Serum Surfactant Protein D and Haptoglobin as Potential Biomarkers for Inflammatory Airway Disease in Horses. *Journal of veterinary internal medicine*, v.29, n.6, p.1707-1711, 2015.

BUSK, P., JACOBSEN, S., MARTINUSSEN, T. Administration of perioperative penicillin reduces postoperative serum amyloid A response in horses being castrated standing. *Veterinary Surgery*, v.39, n.5, p.638-643, 2010.

CAMPOS, M. A. Musculação: Diabéticos, osteoporóticos, idosos, crianças, obesos. Sprint: Rio de Janeiro, 5ed., 2011.

CARTER, R. A.; TREIBER, K. H.; GEOR, R. J.; DOUGLASS, L.; HARRIS, P. A. Prediction of incipient pasture-associated laminitis from hyperinsulinaemia, hyperleptinaemia and generalised and localised obesity in a cohort of ponies. *Equine Veterinary Journal*, v. 41, n. 2, p. 171-178, 2009a.

CARTER, R. A.; GEOR, R.J.; STANIAR, W.B.; CUBITT, T.A.; HARRIS, P.A. Apparent adiposity assessed by standardised scoring systems and morphometric measurements in horses and ponies. *The Veterinary Journal*, v.179, n.2, p.204-210, 2009b.

CASELLA FILHO, A. Influência do exercício físico nas lipoproteínas e no endotélio de pacientes com síndrome metabólica. Tese doutorado. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, p. 1-146, 2007.

CASELLA FILHO, A.; ARAÚJO, R. G.; GALVÃO, T. G.; CHAGAS, A. C. P. Inflamação e aterosclerose: integração de novas teorias e valorização dos novos marcadores. *Revista Brasileira Cardiologia Invasiva*, v.11, n.3, p. 14-19, 2003.

CERÓN, J.J. et al. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. *Veterinary Clinical Pathology*, Santa Barbara, v. 34, n. 2, p. 85-99, 2005.

CHANDALIA, H. B; KRISHNASWAMY, P. R. Glycated hemoglobin. *Current Science*. v. 12, n. 83, p. 1522-1532, 2002.

COCATE, P.G; DOMINGUES, S.F; NATLI, A.J. Concentrações sanguíneas de adiponectina e exercício físico: associações com a sensibilidade insulínica. *Revista brasileira de ciência e esporte*, v. 33, p. 787-798, 2011.

CONWAY, B.; RENE, A. Obesity as a disease: no lightweight matter. *Obesity Reviews*, v. 5, n. 3, p. 145-151, 2004.

CRAY, C.; ZAIAS, J.; ALTMAN, N.H. Acute phase response in animals: a review. *Comparative medicine*, v. 59, n. 6, p. 517-526, 2009.

CRESCENCIA, A. P; ROSAS FILHO, A. C. Síndrome metabólica equina. *Revista CFMZ*, n. 61, p. 68-76, 2014.

CRYSTAL, R.G. Alpha-1 antitrypsin, emphysema and liver disease. Genetic bases and strategies for therapy. *J Clin Invest*, v. 85, p. 1343-1352, 1990.

DA MOTA, G. R, ZANESCO, A. Leptina, ghrelina e exercício físico. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.* v. 51, n.1, 2007.

DI FILIPPO, P. A., GOMES, F. R., DA SILVA MASCARENHAS, L., DE ALMEIDA, A. J., RODRIGUES, A. B. F. Proteinograma sérico e do líquido peritoneal de equinos submetidos à orquiectomia. *Ciência Rural*, v.44, n.12, p.2221-2227, 2014.

DI FILIPPO, P.A. et al. Perfil eletroforético das proteínas séricas e do líquido peritoneal de equinos submetidos à obstrução experimental do duodeno, íleo e cólon maior. *Ciência Animal Brasileira*. v. 11, n. 4, p. 938-946, 2010.

DODD, G. T.; DECHERF, S.; LOH, K.; S. E.; WIEDE, F.; BALLAND, E.; MERRY, T. L.; NZBERG, H. M.; ZHANG, Z.; KAHN, B. B.; NEEL, B. G.; BENICE, K. K. Leptin and insulin act on POMC neurons to promote the browning of white fat. *Cell*, v. 160, p. 88-104, 2015.

DONG, H.; HUANG, H.; YUN, X.; KIM, D.; YUE, Y.; WU, H.; SUTTER, A.; CHAVIN, K. D.; OTTERBEIN, L. E.; ADAMS, D. B.; KIM, Y.; WANG, H. Bilirubin Increases Insulin Sensitivity in Leptin - Receptor Deficient and Diet-Induced Obese Mice Through Suppression of ER Stress and Chronic Inflammation. *Endocrinology*, v.155, n. 3, p.818–828, 2014.

ECKERSALL, D. P.; BELL, R. Acute phase proteins: Biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. *The Veterinary Journal*, Philadelphia, v. 185, p.23-27, 2010.

EDINGER, V.H. et al. Electrophoretic serum protein patterns in laminitis horses. *Dtsch. Tierarztl Wochenschr*, v.99, p.426, 1992.

EL-MAATY, A. M. A.; SISY1, G. A. E.; SHAKER, M. H.; EZZO, O. H. Age-related rump fat, fat percent, body fat mass, leptin, androgens and semen parameters of Arab stallions. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, v. 3, n. 3, p. 184-191, 2014

ELZINGA, S. E.; WOOD, P. L.; ADAMS, A. A. Characterization of lipid and inflammatory profiles in horses with equine metabolic syndrome. *Journal of Equine Veterinary Science*, v.35, 2015.

FAGLIARI, J. J., SILVA, S. L., SILVA, P. C., PEREIRA, G. T. Leucograma e teores plasmáticos de proteínas de fase aguda de eqüinos portadores de abdômen agudo e submetidos à laparotomia. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, p.322-328, 2008.

FAGLIARI, J. J.; SILVA, S. L. Hemograma e proteinograma plasmático de eqüinos hígidos e de equinos acometidos por abdômen agudo, antes e após laparotomia. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v. 54, n. 6, p. 559-567, 2002.

FALEIROS, R.R.; AMARAL, L.A.; PAZ, C.F.R.; NOGUEIRA, C.E.W. Obesidade e laminite, problemas a serem estudados na raça Crioula. ANÚARIO RAÇA CRIOULA, v.52, p.400-402, 2012.

FAZIO, F.; ASSENZA, A.; TOSTO, F.; CASELLA, S.; PICCIONE, G.; CAOLLA, G. Modifications of some acute phase proteins and the white blood cell count in thoroughbreds during training. Veterinary Record, London, v. 167, n. 10, p. 370-373, 2010.

FEITOSA, F.L.F. Semiologia Veterinária: A Arte do Diagnóstico. 3 ed. Editora ROCA, 2014, 644.

FIRSHMAN, A. M.; VALBERG, S. J. Factors affecting clinical assessment of insulin sensitivity in horses. Equine veterinary journal, v. 39, n. 6, p. 567-575, 2007.

FRANK, N. Equine metabolic syndrome. The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice, v.27, n.1, p.73-92, 2011.

FURMAN, M. I., GORE, J. M., ANDERSON, F. A., BUDAJ, A., GOODMAN, S. G., AVEZUM, Á., DABBOUS, O. H. Elevated leukocyte count and adverse hospital events in patients with acute coronary syndromes: findings from the Global Registry of Acute Coronary Events (GRACE). American heart journal, v.147, n.1, p.42-48, 2004.

GALIC, S.; OAKHILL, J.S.; STEINBERG, G.R. Adipose tissue as an endocrine organ. Molecular and cellular endocrinology, v. 316, n. 2, p. 129-139, 2010.

GENTRY, L. R., THOMPSON, D. L., GENTRY, G. T., DEL VECCHIO, R. P., DAVIS, K. A., DEL VECCHIO, P. M. The relationship between body condition score and ultrasonic fat measurements in mares of high versus low body condition. Journal of Equine Veterinary Science, v. 24, n. 5, p. 198-203, 2004.

GIMENEZ, T. M.; BLAS, I.; AGUILERA-TEJERO, E.; CASTRO, E. D.; AGUIRRE PASCASIO, C. N. Endocrine, morphometric, and ultrasonographic characterization of neck adiposity in Andalusian horses. Domestic Animal Endocrinology, v.56, p.57-62, 2016.

GOBESSO, A.A.O.; MARTINS, R.A.D.T.; GIL, P.C.N.; FRANÇOSO, R.; GONZAGA, I.V.F. Avaliação de escore corporal em equinos por meio da ultrassonografia. Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci., Sao Paulo, v. 51, n. 2, p. 136-141, 2014.

GOMES, F; TELO, D.F; SOUZA, H.P; NICOLAU, J.C; HALPERN, A; SERRANO C.V.JR. Obesidade e Doença Arterial Coronariana: Papel da Inflamação Vascular. Arquivo Brasileiro de Cardiologia, v.94, n.2, p. 273-279, 2010.

GOMES, C. L. N., RIBEIRO FILHO, J. D., FARIAS, S. K., DONNER, A. C. Effects of PEG 3350 or an enteral solution associated or not with Ringer lactate, and of NaCl 0.9% on the glucose, lactate, cortisol and insulin of healthy equines. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.66, n.4, p.1039-1045, 2014.

GOOSSENS, G. H; BLAAK, E. E. Adipose tissue dysfunction and impaired metabolic health in human obesity: a matter of oxygen ? *Frontiers in Endocrinology*, v. 6, p. 1 5, 2015.

GORDON, A.H. Electrophoresis of proteins in poliacrylamide and starch gels. New York: Elsevier Science Publishers BV, p.213, 1975.

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

GUPTA, A.; HERMAN, Y.; AYERS, C.; BEG, M. S.; LAKOSKI, S. G.; ABDULLAH, S. M.; JOHNSON, D. H.; NEELAND, L. J. Plasma Leptin Levels and Risk of Incident Cancer: Results from the Dallas Heart Study. *PloS ONE*, v.11, n.9, p.1 - 11, 2016.

HENNEKE, D. R., POTTER, G. D., KREIDER, J. L., YEATES, B. F. Relationship between condition score, physical measurements and body fat percentage in mares. *Equine veterinary journal*, v.15, n.4, p.371-372, 1983.

HOTAMISLIGIL, G. S; ARNER, P; CARO, J. F; ATKINSON, R. L; SPIEGELMAN, B. M. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor- α in human obesity and insulin resistance. *Jornal of Clinical Investigation*, v.95, p. 2409-2415, 1995.

HOTAMISLIGIL, G. S; N. S. SHARGILL; B. M. SPIEGELMAN. Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science*, v.259, p. 87-91, 1993.

HRIBAL, M. L.; FIORENTINO, T. V.; SESTI, G. Role of C reactive protein (CRP) in leptin resistance. *Current pharmaceutical design*, v. 20, n. 4, p. 609-615, 2014.

JAIN, N. C. Essentials of veterinary hematology. Wiley-Blackwell, 1ed.,1993.

JAIN, S.; GAUTAM, V.; NASEEM, S. Acute-phase proteins: As diagnostic tool. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, v. 3, n. 1, p. 118, 2011.

JENSEN, L. E.; WHITEHEAD, A. S. Regulation of serum amyloid A protein expression during the acute phase response. *Biochemical Journal*, Londres, v. 334, p. 489-503,1998.

JOHNSON, P. J.; WIEDMEYER, C. E.; LACARRUBBA, A.; GANJAM, V. K.; MESSER, N.T. Diabetes, insulin resistance, and metabolic syndrome in horses. *Journal of Diabetes Science and Technology*, v.6, n.3, p. 534-540, 2012.

JOHNSON, P. J.; WIEDMEYER, C. E.; VENKATASESHU, V. K.; Medical Implications of Obesity in Horses-Lessons for Human Obesity. *Journal of Diabetes Science and Technology*, v. 3, p. 163-174, 2009.

JOHNSON, P.J.; SCOTTY, N.C.; WIEDMEYER,C.; MESSE N.T.; KREEGER, J.M. Diabetes mellitus in a domesticated Spanish Mustang. *JAVMA*, v. 226, n.4, 2005.

KANEKO, J.J. Clinical biochemistry of domestic animals. 6.ed. San Diego: Academic Press, p.916, 2008.

KNOWLES, E. J., WITHERS, J. M., MAIR, T. S. Increased plasma fructosamine concentrations in laminitic horses. *Equine veterinary journal*, v.44, n.2, p.226-229, 2012.

KONNER, C.; BRUNING, J. C. Selective Insulin and Leptin Resistance in Metabolic Disorders. *Cell Metabolism*, v.16, p. 1-9, 2012.

KRONFELD, D. S. et al. Insulin resistance in the horse: Definition, detection, and dietetics. *Journal Animal Science*, v.83, suppl. E22–E31, 2005.

KUMAR, B., FRANCIS, S. M., SUTTIE, J. M., THOMPSON, M. P. Expression of obese mRNA in genetically lean and fat selection lines of sheep. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, v.120, n.3, p.543-548, 1998.

LACOMBE, V.; HINCHCLIFF, K.W.; DEVOR, S.T. Effects of exercise and glucose administration on content of insulin-sensitive glucose transporter in equine skeletal muscle. *American Journal of Veterinary Research*, v.64, p.1500–1506, 2003.

LAWLER, H. M; UNDERKOFER, C. M; KERN, P. A; ERICKSON, C; BREDBECK, B; RASOULI, N. Adipose tissue hypoxia, inflammation, and fibrosis in obese insulin sensitive and obese insulin-resistant subjects. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, v. 101, n. 4, p. 1422-1428, 2016.

LECLERE, M.; LAVOIE-LAMOUREUX, A.; LAVOIE, J.-P. Acute phase proteins in racehorses with inflammatory airway disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v. 29, n. 3, p. 940-945, 2015.

LEITE, L.D; ROCHA, E.D.M.; BRANDÃO NETO, J. Obesidade: uma doença inflamatória. *Revista Ciência & Saúde*, v.2, n.2, p.85-95, 2009.

MAGALHÃES, J.F.; LIMA, I.R.; LIMA, L.R.; VARELA, J.A.R.C.; VIEIRA, R.A.M.; ALVES, G.E.S.; FALEIROS, R.R. Estudo da correlação de medidas radiográficas indicadoras de laminite em éguas da raça Mangalarga Machador com e sem sinais de sobrepeso. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.66, n.4, p.1023-1032, 2014.

MAKKI, K.; FROGUEL, P.; WOLOWCZUK, I. Adipose Tissue in Obesity-Related Inflammation and Insulin Resistance: Cells, Cytokines, and Chemokines. *Hindawi Publishing Corporation*, p. 1 - 12, 2013.

MALAZDREWICH, C. Equine Endocrinology: Cushing's Disease and Metabolic Syndrome. Disponível em: <http://horse911.com/kb/?View=entry&EntryID=484>. Acesso em: 25/11/2016

MANCINI, M.C. Tratado de Obesidade. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2 ed., 820p., 2015.

MANSO FILHO H.C.; MANSO H.E.C.C.; FERREIRA L.M.C.; SANTIAGO T.A.; WANDERLEY E.K.; ABREU J.M.G. Percentagem de gordura de cavalo criados em região tropical. *Acta Scientiae Veterinariae*. v.37, n.3, p.239-243, 2009.

MARTI, A.; MARCOS, A.; MARTINEZ, J. A. Obesity and immune function relationships. *Obesity reviews*, v. 2, n. 2, p. 131-140, 2001.

MARTINEZ-SUBIELA, S. M., TECLES, F., PARRA, M. D., CERÓN, J. J. Proteínas de fase aguda: conceptos básicos y principales aplicaciones clínicas en medicina veterinaria. In *Anales de Veterinaria de Murcia*, v. 17, p. 97-113, 2001.

MAYER, L.E.; BONA, K.S.; ABDALLA, F.H.; ALMEIDA, F.L.; POZZOBON, R.C.R.; CHARÃO, M.F.; MORETTO, M.B.; MORESCO, R.N. Perspectivas laboratoriais na avaliação da resposta inflamatória. *Revista Brasileira de Farmácia*, v. 91, n. 4, p. 149-161, 2010.

MILANSKI, M. Efeitos de ácidos graxos na indução de inflamação hipotalâmica. Tese (Doutorado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. 2009.

MUHAMMAD, I. F., BORNÉ, Y., HEDBLAD, B., NILSSON, P. M., PERSSON, M., & ENGSTRÖM, G. Acute-phase proteins and incidence of diabetes: a population-based cohort study. *Acta Diabetologica*, v. 53, n. 6, p. 981-989, 2016.

MURATA, H. et al. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. *The Veterinary Journal*, London, v. 168, n. 1, p. 28-40, 2004.

NABI, T.; RAFIQ, N.; QAYOOM, O.; QURAT- UL- AIN-ARIFA. Leptin Dysfunction: A Cause for Obesity. *International Journal of Health Sciences and Research*, v. 6, n.1, p. 498-505, 2016.

NATIONAL GLYCOHEMOGLOBIN STANDARDIZATION PROGRAM (NGSP). List of NGSP certified methods (updated 12/08, listed by date certified). Acesso em: 21 nov. 2016.

NEELS JG, OLEFSKY JM. Inflamed fat: what starts the fire? *Journal of Clinical Investigation*, v.116, n.1, p.33-35, 2006.

NETO, N.S.; CARVALHO, J.F.D. O uso de provas de atividade inflamatória em reumatologia. *Revista Brasileira de Reumatologia*, v. 49, n. 4, p. 413-430, 2009.

NOGUEIRA, A.F.S. Análise multivariada do leucograma e da resposta de fase aguda em equinos acometidos por síndrome cólica de origem natural ou experimental. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2014, 61 p.

PATTULLO, K.M.; KIDNEY, B.A. Reference Point: Exploring fructosamine beyond diabetes mellitus. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 244, n. 11, p. 1268-1277, 2014.

PAULA, M.S. A relação da leptina, grelina e insulina com a obesidade. EFDportes revista digital, Buenos Aires, ano 18, n. 184, 2013.

PAZ, C.R.F.; PAGANELLA, J.C.; DOS SANTOS, C.A.; NOGUEIRA, C.E.W.; FALEIROS, R.R. Relação entre obesidade, insulina plasmática e posicionamento da falange distal em equinos da raça Crioula. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.65, n.6, p.1699-1705, 2013.

PHILLIPS, C. M. Metabolically healthy obesity across the life course: epidemiology, determinants, and implications. Annals of the New York Academy of Sciences, p. 1 - 16, 2016.

PLEASANT, R. S., SUAGEE, J. K., THATCHER, C. D., ELVINGER, F., GEOR, R. J. Adiposity, plasma insulin, leptin, lipids, and oxidative stress in mature light breed horses. Journal of veterinary internal medicine, v.27, n.3, 576-582, 2013.

QUARESMA, M.; PAYAN-CARREIRA, R.; SILVA, S. R. Relationship between ultrasound measurements of body fat reserves and body condition score in female donkeys. The Veterinary Journal, v. 197, n. 2, p. 329-334, 2013.

ROBIN, C. A; IRELAND, J. L; WYLIE, C. E; COLLINS, S. N; VERHEYEN, K. L. P; NEWTON, J. R. Prevalence of and risk factors for equine obesity in Great Britain based on owner-reported body condition scores. Equine Veterinary Journal, n.47, p.196-201, 2015.

ROMERO, C. E. M.; ZANESCO, A. The role of leptin and ghrelin on the genesis of obesity. Revista de Nutrição, v.19, n.1, p. 85-91, 2006.

RUBIO, C.P.; DOS SANTOS SCHMIDT, E.M. Proteínas de fase aguda em cães: possíveis aplicações em cirurgia. Veterinária e Zootecnia, v. 21, n. 4, p. 492-502, 2014.

SACKS, D. B. Carbohydrates. In: BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D. E. 4.ed. Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics. St. Louis: Elsevier Saunders, 2006. p. 837-901

SAEG. SAEG: sistema para análises estatísticas, versão 9.1. Viçosa: UFV, 2007.

SÁNCHEZ, M. J.; AZOR, P. J.; MOLINA, A.; PARKIN, T.; RIVERO, J. L. L.; VALERA, M. Prevalence, risk factors and genetic parameters of cresty neck in Pura Raza Español horses. Equine Veterinary Journal, p.1-5, 2016.

SANSINANE, A.S.; CERONE, S.I.; ZONCO, I. Serum leptin levels in cattle with different nutritional conditions. Nutrition Research. v.21, p.1045-1052, 2001.

SANTOS, A.C; MILANSKI, M; ARAÚJO, E.P; TAMBASCIA, M; SAAD, M.J.A; GELONEZE, B; VELLOSO, L.A. AdipoR1 mediates the anorexigenic and insulin/leptin like actions of adiponectin in the hypothalamus. Federation of European Biochemical Societies. Published by Elsevier B.V.. doi:10.1016/j.febslet.2008.03.037.

SAQUETTI, C.H.C. et al. Perfil eletroforético do proteinograma sérico de equinos com obstrução experimental do cólon menor. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. Belo Horizonte v. 60, n. 4, p. 794-799, 2008.

SCHAUER, ALLISON L. Effect of age, breed and sex on longissimus dorsi muscle area and subcutaneous fat depth in horses. *DIGITALCOMMONS@UCONN*, p. 1-37, 2015.

SCHOLZ, A. M., BÜNGER, L., KONGSRO, J., BAULAIN, U., MITCHELL, A. D. Non invasive methods for the determination of body and carcass composition in livestock: dual-energy X-ray absorptiometry, computed tomography, magnetic resonance imaging and ultrasound: invited review. *animal*, v. 9, n. 07, p. 1250-1264, 2015.

SIGNORE, A.P; ZHANG, F; WENG, Z; GAO, YQ. G, CHEN, J. Leptin neuroprotection in the CNS: mechanisms and therapeutic potentials. *Journal of Neurochemistry*. v.106, p. 1977-1990, 2008.

SILVA, S. R., PAYAN-CARREIRA, R., QUARESMA, M., GUEDES, C. M., SANTOS, A. S. Relationships between body condition score and ultrasound skin-associated subcutaneous fat depth in equids. *Acta Veterinaria Scandinavica*, v. 58, n. 1, p. 62, 2016.

SILVEIRA, M.R.; FROLLINI, A.B.; VERLENGIA, R.; CAVAGLIERI, C.R. Correlação entre obesidade, adipocinas e sistema imunológico. *Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano*, v.11, n.4, p.466-472, 2009.

SIMPLÍCIO, K. M. M. G., SOUSA, F. C., FAGLIARI, J. J., SILVA, P. C. Proteinograma sérico, com ênfase em proteínas de fase aguda, de bovinos sadios e bovinos portadores de enfermidade aguda de ocorrência natural. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, p.1339-1347, 2013.

SIPPEL, C; BASTIAN, R. M. A; GIOVANELLA, J; FACCIN, C; CONTINI, V; BOSCO, S. M. D. Processos inflamatórios da obesidade. *Revista de Atenção à Saúde*, v. 12, n.42, p.48-56, 2014.

SPEIRS, V.C. Exame Clínico de Equinos. Ed. Artmed. São Paulo, 1999.

SUAGEE, J. K.; CORL, B.A.; CRISMAN, M.V.; PLEASANT, R.S.; THATCHER, C.D.; GEOR R.J. Relationships between Body Condition Score and Plasma Inflammatory Cytokines, Insulin, and Lipids in a Mixed Population of Light-Breed Horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v.27, p.157–163, 2013.

THRALL, M. A. Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária . São Paulo : Roca, 2015.

TONET, A. C.; NÓBREGA, O.T. Imunossenescência: a relação entre leucócitos, citocinas e doenças crônicas. *Rev. bras. geriatr. gerontol*, v. 11, n. 2, p. 259-273, 2008.

TRAYHURN, P. Hypoxia and adipose tissue function and dysfunction in obesity. *Physiological Reviews*, v. 93, p. 1-21, 2013.

TREVASKIS, J. L.; WITTMER, C.; ATHANACIO, J.; GRIFFIN, P. S.; D. G. PARKES, D. G.; ROTH, J. D. Amylin/leptin synergy is absent in extreme obesity and not restored by calorie restriction-induced weight loss in rats. *Obesity Science & Practice*, p. 1-7, 2016.

TRICHÊS, P.; TAKASE, E. Mentalização e aplicação em atletas. *Revista Digital EFDeportes*, Buenos Aires, v. 15, n. 148, 2010.

VAN DE SANDE-LEE, S, VELLOSO, L. A. Disfunção hipotalâmica na obesidade. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.* v. 56, n.6, 2012.

VOLANAKIS, J.E. Acute-phase Proteins in Rheumatic Disease. In: Koopmann WJ, Moreland LW (orgs.). *Arthritis and Allied Conditions*. 15 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2005.

VOLP, A.C.P; ALFENAS, R.C.G.; COSTA, N.M.B; MINIM, V.P.R; STINGUETA, P.C; BRESSAN, J. Capacidade dos Biomarcadores Inflamatórios em Predizer a Síndrome Metabólica. *Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabologia*, v.52, n.3, p. 537-549, 2008.

WATTS, K.A. Forage and pasture management for laminitic horses. *Clinical Technical Equine Practice*, v.3, p.88-95, 2004.

WEISBERG, S.P; MCCANN D; DESAI M; ROSENBAUM, M; LEIBEL, RL; FERRANTE, A.W.Jr. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *Journal of Clinical Investigation*, v.112, n.12, p.1796-1808, 2003.

WELLEN, K. E; HOTAMISLIGIL, G. S. Obesity-induced inflammatory changes in adipose tissue. *The Journal of Clinical Investigation*, V. 112, n. 12, p. 1785-1788, 2003.

WESTERVELT, R. G., STOUFFER, J. R., HINTZ, H. F., SCHRYVER, H. F. Estimating fatness in horses and ponies. *Journal of Animal Science*, v.43, n.4, p.781-785, 1976.

WINDGASSEN, E. B; FUNTOWICZ, L; LUNSFORD, T. N; HARRIS, L. A; MULVAGH, S. L. C-Reactive Protein and High-Sensitivity C-Reactive Protein: An Update for Clinicians. *Clinical Features*, v.123, n.1, p.114-119, 2011.

WOOD, I.S; HEREDIA, F.P; WANG, B; TRAYHURN, P. Cellular hypoxia and adipose tissue dysfunction in obesity. *The Proceedings of the Nutrition Society*, v.68, n.4, p.370-377, 2009.

XU, H; BARNES, G. T; YANG, Q; YANG, G. T. D; CHOU, C. J; SOLE, J; NICHOLS, A; ROSS, J. S; Tartaglia, L. A; Chen, H. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *The Journal of Clinical Investigation*, v. 112, n.12, p. 1821-1830, 2003.

YAMASHITA, K., FUJINAGA, T., OKUMURA, M., TAKIGUCHI, M., TSUNODA, N., MIZUNO, S. Serum C-reactive protein (CRP) in horses: the effect of aging, sex, delivery and inflammations on its concentration. *Journal of Veterinary Medical Science*, v.53, p.1019– 1024, 1991.

ZHANG, X; LAM, K. S. L; YE, H; CHUNG, S. K; ZHOU, M; WANG, Y; XU, A. Adipose tissue-specific inhibition of hypoxia-inducible factor 1_α induces obesity and glucose intolerance by impeding energy expenditure in mice. *The Journal of Biological Chemistry*, v. 285, n. 43, p. 32869- 32877, 2010.

ZHANG, Y; PROENCA, R; MAFFIE, M; BARONE, M; LEOPOLD, L; FRIEDMAN, J. M. Position cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, v. 372, p. 425 - 432, 1994.

8. ANEXOS

Anexo 1. Valores individuais, médios, desvio padrão, máximo e mínimo dos parâmetros clínicos, ultrassonográficos, escore de condição corporal* e adiposidade regional dos equinos do grupo controle (C) e grupo com sobrepeso (O).

GRUPO	IDENTIFICAÇÃO	IDADE	FC	FR	TPC (segundos)	TEMPERATURA (°C)	PESO (Kg)	US BASE DE CAUDA (cm)	US ABDOMEM VENTRAL (cm)	ECC*	CIRCUNFERÊNCIA DO PESCOÇO (cm)
Sobrepeso	Animal 1	3,5	36	24	2	38,2	440	1,65	1,63	8	102,8
	Animal 2	6	32	36	2	37,5	425	1,46	1,55	7	102,3
	Animal 3	3	28	30	2	37,8	430	1,95	1,95	8	89,6
	Animal 4	10	40	24	2	36,9	465	1,40	1,59	7	95,6
	Animal 5	8	32	22	2	36,8	350	2,00	1,64	5	100,5
	Animal 6	3	34	38	2	38,2	410	1,90	1,09	6	94,2
	Animal 7	3	44	26	2	37,5	400	1,51	1,07	6	95,3
	Animal 8	8	24	16	2	37,6	440	2,36	2,08	7	95,6
	Animal 9	16	40	24	2	36,9	440	1,25	1,07	7	104,8
	MÉDIA	6,7	34,4	26,7	2,0	37,5	422,2	1,72	1,52	7	97,9
	DP	4,4	6,3	6,9	0,0	0,5	33,0	0,36	0,37	1	5,0
	MÍNIMO	3	24	16	2	36,8	350	1,25	1,07	5	89,6
	MÁXIMO	16	44	38	2	38,2	465	2,36	2,08	8	104,8

GRUPO	IDENTIFICAÇÃO	IDADE	FC	FR	TPC (segundos)	TEMPERATURA (°C)	PESO (Kg)	US BASE DE CAUDA (cm)	US ABDOMEM VENTRAL (cm)	ECC*	CIRCUNFERÊNCIA DO PESCOÇO (cm)
Controle	Animal 1	3,3	48	24	2	36,5	304	0,45	0,40	3	82,6
	Animal 2	3,5	38	28	2	37,4	355	0,57	0,72	3	88,9
	Animal 3	4,5	46	20	2	37,8	430	0,76	0,85	6	95,2
	Animal 4	3	34	20	2	37,4	380	0,71	0,95	7	93
	Animal 5	16	32	19	2	36,8	440	0,55	0,81	6	97,6
	Animal 6	3,5	44	30	2	38,1	440	0,90	1,20	8	99,4
	Animal 7	17	28	16	2	37,5	380	0,62	0,90	5	87
	Animal 8	8	34	16	2	37,6	390	0,71	0,83	4	92
	Animal 9	12	43	19	2	37,3	300	0,47	1,05	5	78
	MÉDIA	7,9	38,6	21,3	2,0	37,4	379,9	0,64	0,86	5	90,4
	DP	5,7	7,0	5,0	0,0	0,5	53,2	0,15	0,22	2	7,0
	MÍNIMO	3	28	16	2	36,5	300	0,45	0,40	3	78
	MÁXIMO	17	48	30	2	38,1	440	0,90	1,20	8	99,4

Anexo 2. Valores individuais, médios, desvio padrão, máximo e mínimo dos parâmetros hematimétricos dos equinos do grupo controle (C) e grupo com sobrepeso (O).

GRUPO	IDENTIFICAÇÃO	Hemácias (milhões/ μ L)	Hb (g/dL)	VG (%)	VCM (fL)	CHCM (%)	RDW (%)	Leucócitos (/ μ L)	Seg (%)	Lin (%)	Mon (%)	Eos (%)	Bas (%)	Plaquetas (mil/ μ L)	PPT (g/dL)
Sobrepeso	Animal 1	7,98	12,2	40,0	50,1	30,5	20,2	11000	37	59	2	2	0	187	7,4
	Animal 2	8,19	12,8	43,5	53,1	29,4	19,7	6600	47	45	5	3	0	193	7,2
	Animal 3	6,72	10,7	35,0	52,1	30,6	19,9	8200	40	51	1	8	0	264	7,0
	Animal 4	9,22	14,4	47,0	51,0	30,6	21,0	10300,00	27	69	1	2	1	182	7,0
	Animal 5	9,17	14,2	47,0	51,3	30,2	20,6	8200	42	41	1	16	0	91	7,6
	Animal 6	7,17	11,0	37,7	52,6	29,2	19,90	11200	56	30	8	6	0	308	8,0
	Animal 7	7,94	13,0	37,7	47,5	34,5	17,70	14700	42	48	0	10	0	222	6,6
	Animal 8	9,47	14,7	47,0	49,6	31,3	19,6	9500	33	64	0	3	0	186	7,2
	Animal 9	8,28	12,7	41,5	50,1	30,6	18,2	16700	41	52	0	4	3	240	8,0
	MÉDIA	8,24	12,9	41,8	50,8	30,8	19,64	10711	41	51	2	6	0	208	7,3
	DP	0,93	1,4	4,6	1,7	1,5	1,1	3226	8	12	3	5	1	61	0,5
	MÍNIMO	6,72	10,7	35	47,5	29,2	17,7	6600	27	30	0	2	0	91	6,6
	MÁXIMO	9,47	14,7	47	53,1	34,5	21	16700	56	69	8	16	3	308	8,0

GRUPO	IDENTIFICAÇÃO	Hemácias (milhões/ μ L)	Hb (g/dL)	VG (%)	VCM (fL)	CHCM (%)	RDW (%)	Leucócitos (/ μ L)	Seg (%)	Lin (%)	Mon (%)	Eos (%)	Bas (%)	Plaquetas (mil/ μ L)	PPT (g/dL)
Controle	Animal 1	7,14	10,9	35,2	49,3	31,0	18,4	10400	73	26	0	1	0	178	7,6
	Animal 2	7,98	12,1	39,2	49,1	30,9	19,9	8300	65	32	1	2	0	198	6,6
	Animal 3	8,57	14,2	40,1	46,8	35,4	17,9	9600	48	46	2	3	1	156	7,2
	Animal 4	7,24	11,2	34,3	47,4	32,7	17,7	8900	53	39	6	1	1	179	6,6
	Animal 5	6,74	11,4	33,3	49,4	34,2	18,4	7100	48	40	3	9	0	184	6,8
	Animal 6	8,16	13,4	39,0	47,8	34,4	18,2	12600	47	42	4	6	1	200	7,6
	Animal 7	5,31	10	31,0	58,4	32,3	19,2	5800	41	51	6	2	0	101	8,0
	Animal 8	5,75	10,6	32,0	55,7	33,1	20,2	9000	46	51	2	1	0	174	8,0
	Animal 9	6,29	10,9	31,3	49,8	34,8	19,1	10700	69	28	2	1	0	131	8,0
	MÉDIA	7,02	11,6	35,0	50,4	33,2	18,8	9156	54	39	3	3	0	167	7,4
	DP	1,11	1,4	3,6	3,9	1,6	0,9	2009	12	9	2	3	1	32	0,6
	MÍNIMO	5,31	10	31	46,8	30,9	17,7	5800	41	26	0	1	0	101	6,6
	MÁXIMO	8,57	14,2	40,1	58,4	35,4	20,2	12600	73	51	6	9	1	200	8

Anexo 3. Valores individuais, médios, desvio padrão, máximo e mínimo ds dosagens bioquímicas e hormonais dos equinos do grupo controle (C) e grupo com sobrepeso (O).

GRUPO	IDENTIFICAÇÃO	Glicose (mg/dL)	Frutosamina (μmol/L)	HbA1C (%)	Leptina (ng/mL)	Insulina (mcU/mL)
Sobrepeso	Animal 1	88	256	15,4	1,9	1,21
	Animal 2	82	293	19,5	1,4	0,79
	Animal 3	78	285	18,2	1,1	3,00
	Animal 4	64	317	17,3	1,7	2,10
	Animal 5	66	298	17,5	1,5	1,59
	Animal 6	72	291	15,2	1,0	1,47
	Animal 7	60	277	21,2	2,0	1,15
	Animal 8	66	282	16,1	1,6	1,60
	Animal 9	64	258	15,2	1,3	0,99
	MÉDIA	71,1	284,1	17,3	1,5	1,54
	DP	9,5	19,1	2,1	0,3	0,67
	MÍNIMO	60	256	15,2	1,0	0,79
	MÁXIMO	88	317	21,2	2,0	3,00

GRUPO	IDENTIFICAÇÃO	Glicose (mg/dL)	Frutosamina (μmol/L)	HbA1C (%)	Leptina (ng/mL)	Insulina (mcU/mL)
Controle	Animal 1	68	196	14,7	0,5	1,50
	Animal 2	67	216	13,5	0,7	0,50
	Animal 3	64	219	12,9	0,7	0,40
	Animal 4	73	226	11,1	0,5	1,10
	Animal 5	67	253	12,6	0,5	0,60
	Animal 6	83	228	12,7	1,1	1,30
	Animal 7	69	226	13,1	0,8	2,18
	Animal 8	60	218	13,6	0,6	0,93
	Animal 9	82	223	13,9	0,5	0,52
	MÉDIA	70,3	222,8	13,1	0,7	1,00
	DP	7,7	14,8	1,0	0,2	0,59
	MÍNIMO	60	196	11,1	0,5	0,40
	MÁXIMO	83	253	14,7	1,1	2,18

Anexo 4. Valores individuais, médios, desvio padrão, máximo e mínimo ds dosagens bioquímicas dos equinos do grupo controle (C) e grupo com sobrepeso (O).

GRUPO	IDENTIFICAÇÃO	Uréia (mg/dL)	Creatinina (mg/dL)	AST (UI/L)	GGT (UI/L)
Sobrepeso	Animal 1	24	1,5	147	19
	Animal 2	22	1,2	192	14
	Animal 3	33	1,6	164	14
	Animal 4	25	1,3	122	15
	Animal 5	27	1,6	178	16
	Animal 6	38	1,3	169	15
	Animal 7	35	1,5	133	16
	Animal 8	22	1,6	170	14
	Animal 9	45	1,6	134	17
	MÉDIA	30,1	1,5	156,6	15,6
	DP	8,1	0,2	23,6	1,7
	MÍNIMO	22	1,2	122	14
	MÁXIMO	45	1,6	192	19

GRUPO	IDENTIFICAÇÃO	Uréia (mg/dL)	Creatinina (mg/dL)	AST (UI/L)	GGT (UI/L)
Controle	Animal 1	22	0,9	133	16
	Animal 2	20	0,6	179	8
	Animal 3	51	1,9	140	11
	Animal 4	13	1,1	128	9
	Animal 5	27	1,2	135	13
	Animal 6	30	1,4	174	17
	Animal 7	42	0,9	124	18
	Animal 8	46	1,1	127	12
	Animal 9	59	0,8	125	15
	MÉDIA	34,4	1,1	140,6	13,2
	DP	15,7	0,4	21,0	3,5
	MÍNIMO	13	0,6	124	8
	MÁXIMO	59	1,9	179	18

Anexo 5. Valores individuais, médios e desvio padrão do proteinograma dos equinos do grupo controle (C) e grupo com sobrepeso (O).

GRUPO	IDENTIFICAÇÃO	Proteína Total (mg/dL)	IgA (mg/dL)	Ceruloplasmina (mg/dL)	Transferrina (mg/dL)	Albumina (mg/dL)	α 1-antitripsina (mg/dL)	IgG (mg/dL)	Haptoglobina (mg/dL)	Glicoproteína ácida (mg/dL)
Sobrepeso	Animal 1	7500	307,8	171,9	240,2	3029,3	379,7	1731,3	186,3	40,8
	Animal 2	7400	275,8	140,4	296,6	3450,5	389,9	1119,9	171,8	25,9
	Animal 3	6600	265,5	84,2	391,6	2194,6	395,9	1291,1	236,7	73,9
	Animal 4	7200	229,46	144,86	289,8	2718	236,02	1694,74	172,3	68,25
	Animal 5	7800	187,98	132,6	618,54	2667,6	383,76	1717,56	283,92	123,24
	Animal 6	7900	226,73	97,17	210,14	3049,4	395	1672,19	271,76	89,27
	Animal 7	7900	152,47	59,25	195,13	3184,49	300,99	1697,71	255,96	86,9
	Animal 8	7100	109,34	53,25	488,48	3177,96	340,09	1229,72	219,39	80,94
	Animal 9	6400	87,04	55,04	534,4	2850,56	399,36	1254,4	285,44	128,64
	MÉDIA	7311,11	204,68	104,30	362,77	2924,71	357,86	1489,85	231,51	79,76
	DP	544,16	76,18	44,49	153,15	367,76	56,03	256,92	46,32	33,56

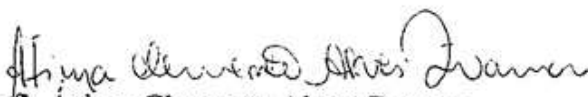
GRUPO	IDENTIFICAÇÃO	Proteína Total (mg/dL)	IgA (mg/dL)	Ceruloplasmina (mg/dL)	Transferrina (mg/dL)	Albumina (mg/dL)	α 1-antitripsina (mg/dL)	IgG (mg/dL)	Haptoglobina (mg/dL)	Glicoproteína ácida (mg/dL)
Controle	Animal 1	7400	163,54	96,2	561,66	3402,52	321,16	1536,98	193,88	76,22
	Animal 2	7100	182,47	56,8	147,68	3035,25	39,76	2063,26	200,93	97,98
	Animal 3	6200	112,22	44,64	386,26	2950,58	6,88	1848,84	112,84	42,96
	Animal 4	7500	102,75	37,27	452,25	3596,25	6,92	2205,12	117	66,97
	Animal 5	6400	240,64	63,36	505,6	2921,6	7,12	1177,6	108,16	94,72
	Animal 6	7100	293,94	121,41	548,12	2844,97	8,91	1711,1	73,84	49,48
	Animal 7	8000	128	51,36	232	3295,21	14,21	1458,61	305,6	136,21
	Animal 8	7000	124,21	62,11	345,66	2981,23	21,33	1245,61	122,52	90,12
	Animal 9	6200	184,76	66,96	152,52	2896,04	127,1	1404,32	140,12	120,91
	MÉDIA	6988,89	170,28	66,68	370,19	3102,63	61,49	1627,94	152,77	86,17
	DP	619,36	36,35	26,95	207,79	240,25	172,74	264,64	48,95	27,71

CERTIFICADO

A Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA/UFV certifica que o processo nº 78/2015, intitulado "Influência da obesidade nas adipocinas e marcadores inflamatórios em equinos", coordenado pelo professor José Dantas Ribeiro Filho do Departamento de Veterinária, está de acordo com a Legislação vigente (Lei Nº 11.794, de 08 de outubro de 2008), as Resoluções Normativas editadas pelo CONCEA/MCTI, a DBCA (Diretriz Brasileira de Prática para o Cuidado e a Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos) e as Diretrizes da Prática de Eutanásia preconizadas pelo CONCEA/MCTI, portanto sendo aprovado por esta Comissão em 08/12/2015, com validade de 12 meses.

CERTIFICATE

The Ethic Committee in Animal Use/UFV certify that the process number 78/2015, named "Influence of obesity in adipokines and inflammatory markers in horses", is in agreement with the a actual Brazilian legislation (Lei Nº 11.794, 2008), Normative Resolutions edited by CONCEA/MCTI, the DBCA (Brazilian Practice Guideline for the Care and Use of Animals for Scientific Purposes and Teaching) and the Guidelines of Practice the Euthanasia recommended by CONCEA/MCTI therefore being approved by the Committee on December 08, 2015 valid for 12 months.


Prof. Átima Clemente Alves Zuanon
Presidente

Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/UFV