



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**AVALIAÇÃO DA LIPEMIA, GLICEMIA E LEPTINEMIA EM CADELAS OBESAS E
COM NEOPLASIA MAMÁRIA.**

ANDRESSA DE BARROS GUIMARÃES DOS REIS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM SAÚDE ANIMAL

BRASILIA/DF

JULHO/2013



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**AVALIAÇÃO DA LIPEMIA, GLICEMIA E LEPTINEMIA EM CADELAS OBESAS E
COM NEOPLASIA MAMÁRIA.**

ANDRESSA DE BARROS GUIMARÃES DOS REIS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM SAÚDE ANIMAL

ORIENTADOR: JANILDO LUDOLF REIS JUNIOR

CO-ORIENTADORA: LUCIANA SONNE

PUBLICAÇÃO: 081/2013

BRASILIA/DF

JULHO/2013

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA E CATALOGAÇÃO

REIS, A.B.G. **Avaliação da lipemia, glicemia e leptinemia em cadelas obesas e com neoplasia mamária.** Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2013, 103p. Dissertação de Mestrado.

Documento formal, autorizando reprodução desta dissertação de mestrado para empréstimo ou comercialização, exclusivamente para fins acadêmicos, foi passado pelo autor à Universidade de Brasília e acha-se arquivado na Secretaria do Programa. O autor reserva para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor. Citações são estimuladas, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

REIS, ANDRESSA DE BARROS GUIMARÃES

AVALIAÇÃO DA LIPEMIA, GLICEMIA E LEPTINEMIA EM CADELAS OBESAS E COM NEOPLASIA MAMÁRIA./**Andressa de Barros Guimarães dos Reis** orientação de Janildo Ludolf Reis Junior. Brasília, 2013. p:il.

Dissertação de Mestrado (M) – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2013.

1. Caninos. 2. Obesidade. 3. Glicose. 4. Frutosamina. 5. Triglicérido. 6. Colesterol. 7. Leptina. 8. Tumor de mama. I. Junior, J.L.R. II. Doutor



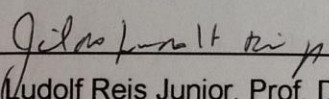
UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**AVALIAÇÃO DA LIPEMIA, GLICEMIA E LEPTINEMIA EM CADELAS OBESAS
E COM NEOPLASIA MAMÁRIA.**

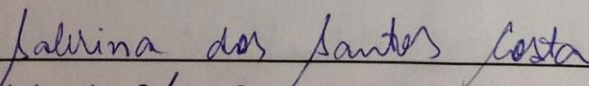
ANDRESSA DE BARROS GUIMARÃES

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA AO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE
ANIMAL, COMO PARTE DOS REQUISITOS
NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO GRAU DE
MESTRE EM SAÚDE ANIMAL.

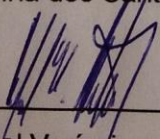
APROVADO POR:



Janildo Ludolf Reis Junior, Prof. Dr. (Universidade de Brasília)



Sabrina dos Santos Costa, Profª Drª. (União Pioneira de Integração Social)



Rafael Veríssimo Monteiro, Prof. Dr. (Universidade de Brasília)

Brasília-DF, 18 de julho de 2013.

“Em todo mundo há somente duas espécies de pessoas – as que sabem e as que não sabem – e o conhecimento é o que importa possuir. A vida – insuperável mestra – nos ensina que nada é conseguido sem trabalho. Paciência e boa vontade são indispensáveis para alguém se aperfeiçoar intelectual e moralmente”

AGRADECIMENTOS

“A palavra Mestre vem do latim magister e significa “diretor”, “chefe”, derivando da palavra “magis”, que significa “mais que os outros”, i.é, “o mais justo, o mais evoluído, o mais sábio, o mais intelectual e espiritual”, homem superior que mais se aproxima da perfeição. Levar ao pé da letra o significa da palavra “mestre” é, no mínimo, egosísta, ou talvez, egocêntrico. Melhor seria pensar no título mestre como representante do outono da vida, estação em que o Sol termina o seu curso e morre para renascer de suas cinzas: é a época em que o homem recolhe os frutos do seu trabalho e de seus estudos. É o emblema que indica a compreensão das lições de moral que a vida ensina e a experiência que se alcança”.

E ao conseguir esta ascensão, agradeço a Deus, onipresente através de todas as pessoas que, direta ou indiretamente, me ajudaram em mais esta etapa da vida.

Ser mãe é a única coisa da qual tenho certeza de ter feito a escolha certa, no momento ideal; obrigada meu filho simplesmente por você existir em minha vida.

Pela ajuda espiritual e moral, com pensamentos positivos que reergueram meu estado de ânimo por vezes abatido tendo a mim o efeito das palavras taumatúrgicas: “Levanta-te e anda”, agradeço ao meu marido.

O conhecimento é o único bem que se adquire por toda a eternidade. Não haverá o dia em que saberemos tudo. Agradeço aos meus pais, Paulo e Leila, por sempre me mostrarem este conceito e por todos os auxílios e amparos ao longo da minha vida.

Um homem sem família é como uma estrada sem rumo! Obrigada família! Sou privilegiada por ter vocês ao meu lado!

Amigos são as pessoas que atualmente iluminam nossos caminhos. O que importa não é o que nós temos na vida, mas quem nós temos em nossas vidas. Agradeço a todos meus amigos, em especial, à Lídia Pereira e Nayara Freire.

Quando busquei compreensão do que era quase imcompreensível, encontrei a solicitude de Sabrina Costa e Anderson Farias. Obrigado pelo profissionalismo de vocês!

Agradeço à professora Cecília Beatriz Fiuza Favali, pelos auxílios laboratoriais!

Ao meu orientador e à co-orientadora, Janildo Reis e Luciana Sonne, agradeço pelo acompanhamento exercido durante a execução do trabalho e auxílios à concretização desta dissertação.

E como devemos agradecer sempre, porque a humildade sobrepõe o homem e qualquer uma de suas filosofias, obrigado a todas as pessoas que contribuíram para meu crescimento como pessoa. Sou o resultado da confiança e da força de cada um de vocês!

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| LISTA DE FIGURAS | ix |
| LISTA DE TABELAS | x |
| LISTA DE ABREVIações | xi |
| 1. INTRODUÇÃO | 1 |
| 2. REFERENCIAL TEÓRICO | 2 |
| 2.1. OBESIDADE CANINA | 2 |
| 2.1.1. Tecido adiposo..... | 2 |
| 2.1.2. Tecido adiposo e produção de leptina..... | 3 |
| 2.1.3. Fatores de risco associados à obesidade | 8 |
| 2.2. Avaliação do escore de condição corporal..... | 10 |
| 2.2.1. Escore de condição corporal (ECC) | 11 |
| 2.2.2. Medição morfométrica..... | 12 |
| 2.2.3. Índice de massa corporal canino (IMCC) | 13 |
| 2.3. Problemas associados com a obesidade..... | 14 |
| 2.3.1. Síndrome metabólica | 14 |
| 2.3.2. Hiperlipidemia | 15 |
| 2.3.3. Alterações glicêmicas | 16 |
| 2.3.4. Neoplasias | 18 |
| 2.4. NEOPLASIA MAMÁRIA..... | 18 |
| 3.1. Objetivo Geral..... | 24 |
| 3.2. Objetivos Específicos | 24 |
| 4. MATERIAIS E MÉTODOS | 25 |
| 4.1. Análise estatística..... | 25 |
| 4.2. Animais..... | 25 |
| 4.3. Caracterização do escore corporal | 27 |
| 4.4. Coleta das amostras..... | 28 |
| 4.5. Mensuração das amostras..... | 29 |
| 4.5.1. Colesterol e triglicérides..... | 29 |
| 4.5.2. Glicose..... | 30 |
| 4.5.3. Frutosamina | 31 |
| 4.5.4. Leptina | 32 |
| 5. RESULTADOS | 39 |
| 5.1. Triglicérides e colesterol..... | 39 |
| 5.2. Glicose e frutosamina..... | 41 |

| | | |
|-------------|--|-----------|
| 5.3. | Leptina..... | 44 |
| 6. | DISCUSSÃO | 46 |
| 7. | CONCLUSÃO..... | 50 |
| 8. | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 51 |
| 9. | APÊNDICES..... | 78 |
| 9.1. | APÊNDICE 1: Ficha clínica dos grupos G2 e G4..... | 78 |
| 9.2. | APÊNDICE 2: Ficha clínica dos grupos G1 e G3..... | 80 |
| 9.3. | APÊNDICE 3: Termo de consentimento (G2 e G4)..... | 81 |
| 9.4. | APÊNDICE 4: Termo de consentimento (G1 e G3)..... | 82 |
| 9.5. | APÊNDICE 5: Idade, escore de condição corporal, peso vivo, medições biométricas, porcentagem de gordura corporal e índice de massa corporal canino dos animais dos grupos G1 e G2. | 83 |
| 9.6. | APÊNDICE 6: Idade, escore de condição corporal, peso vivo, medições biométricas, porcentagem de gordura corporal e índice de massa corporal canino dos animais dos grupos G3 e G4. | 85 |
| 9.7. | APÊNDICE 7: Valores séricos de triglicérides e colesterol | 87 |
| 9.8. | APÊNDICE 8: valores séricos de glicose e frutossamina..... | 88 |
| 9.9. | APÊNDICE 9: Valores séricos de Leptina (ng/ml)..... | 89 |

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|------------------|--|-----------|
| Figura 1 | Ilustração de algumas das diversas citocinas e substâncias endócrinas produzidas pelo tecido adiposo (adaptado de ZORAN, 2010). | 17 |
| Figura 2 | Ilustração dos efeitos hipotalâmicos associados à leptina (adaptado de RICCI & BEVILACQUA, 2012). | 18 |
| Figura 3 | Ilustração sobre os efeitos da leptina e insulina sobre os mecanismos hipotalâmicos de fome e saciedade em situações de jejum alimentar (adaptado de Velloso, 2006) | 19 |
| Figura 4 | Figura 4: Ilustração sobre os efeitos da leptina e insulina sobre os mecanismos hipotalâmicos de fome e saciedade em situações pós - prandiais e obesidade (adaptado de Velloso, 2006). NPY: neuropeptídeo Y; α MSH: hormônio alfa melanócito estimulante; CART: transcrito regulado por cocaína e anfetamina; AgPR: agouti-related protein; CRH: hormônio liberador de corticotropina; TRH: hormônio liberador de tireotropina; MCH: hormônio concentrador de melanina | 20 |
| Figura 5 | Medição morfométricas em cães (adaptado de Burkholder et al. (2000) | 26 |
| Figura 6 | Figura 6: Vias de sinalização estimulada pela leptina em células tumorais mamárias. (adaptado de Jardé et al., 2011). | 37 |
| Figura 7 | Montagem da placa de ELISA 1 com ordem de adição do padrão, controle de qualidade e amostras | 48 |
| Figura 8 | Figura 8: Placa de ELISA 1, após a adição da solução de parada. | 49 |
| Figura 9 | Montagem da placa de ELISA 2 com ordem de adição do padrão, controle de qualidade e amostras | 50 |
| Figura 10 | Figura 10: Placa de ELISA 2, após a adição da solução de parada. | 51 |
| Figura 11 | Resultado médio dos níveis séricos de triglicérides por grupo. | 53 |
| Figura 12 | Figura 12: Resultado médio dos níveis séricos de colesterol por grupo. | 54 |
| Figura 13 | Figura 13: Resultados médios dos níveis séricos de glicose por grupo. | 55 |
| Figura 14 | Resultados médios dos níveis séricos de glicose por grupo. | 56 |
| Figura 15 | Resultado médio dos níveis séricos de leptina por grupo. | 58 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|-----------------|--|------------|
| Tabela 1 | Escala de classificação do escore de condição corporal (ECC) utilizada no estudo | 25 |
| Tabela 2 | Etapa de diluição em série para preparação do padrão e concentrações obtidas | 46 |
| Tabela 3 | Idade, escore de condição corporal, peso vivo, medições biométricas, porcentagem de gordura corporal e índice de massa corporal canino dos animais do grupo G1* e G2*.Tabela 3: Idade, escore de condição corporal, peso vivo, medições biométricas, porcentagem de gordura corporal e índice de massa corporal canino dos animais do grupo G1* e G2*. | 99 |
| Tabela 4 | Idade, escore de condição corporal, peso vivo, medições biométricas, porcentagem de gordura corporal e índice de massa corporal canino dos animais do grupo G3* e G4* | 101 |
| Tabela 5 | Valores séricos individuais de triglicerídeos e colesterol dos grupos G1*, G2*, G3* e G4**. | 103 |
| Tabela 6 | Valores séricos individuais glicose e frutamina dos grupos G1*, G2*, G3* e G4**. | 104 |
| Tabela 7 | Valores séricos individuais de leptina em ng/ml do grupo G1*, G2*, G3* e G4**. | 105 |

LISTA DE ABREVIACOES

| | |
|-------------|--|
| ASP | Proteína estimulante de acilação |
| MCP | Proteína quimiotática de monócitos |
| MIF | Fator inibidor de macrófagos |
| NGF | Fator de crescimento neural |
| PG | Prostaglandina |
| TGF | Fator de crescimento tumoral |
| VEGF | Fator de crescimento endotelial vascular |
| SAA | Soro amilóide A |
| PAI | Inibidor do ativador de plaquetas |
| TNF | Fator de necrose tumoral |
| Sr | Receptor de serina |
| IL | Interleucina |
| IGF | Fator de crescimento semelhante à insulina |
| NPY | Neuropeptídeo Y |
| αMSH | Hormônio alfa melanócito estimulante |
| CART | Transcrito regulado por cocaína e anfetamina |
| AgPR | Agouti-related protein |
| CRH | Hormônio liberador de corticotropina |
| TRH | Hormônio liberador de tireotropina |
| MCH | Hormônio concentrador de melanina |



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

Nome completo do autor da Dissertação: Andressa de Barros G. dos Reis

Título da dissertação: Avaliação da lipemia, glicemia e leptinemia em cadelas obesas e com neoplasia mamária.

Nome do curso: Saúde Animal

Data da defesa: 18/07/2013

Nome do orientador: Janildo Ludolf Reis Junior

Palavras chaves em português:

1. Obesidade
2. Canino
3. Glicose
4. Frutosamina
5. Triglicerídeo
6. Colesterol
7. Leptina
8. Tumor de mama

Palavras chaves em língua estrangeira:

1. Obesity
2. Canine
3. Glucose
4. Fructosamine
5. Triglyceride
6. Cholesterol
7. Leptin
8. Mammary gland tumor

RESUMO

Este estudo avaliou os níveis séricos de colesterol, triglicerídeos, glicose, frutossamina e leptina em cadelas obesas com e sem tumores de mama. Foram utilizados 60 caninos divididos em 4 grupos de 15 animais cada, sendo G1 e G2 os grupos controle. No grupo G1 animais com escore de condição corporal (ECC) ideal sem tumor de mama, no G2 animais com ECC ideal com tumor de mama, no grupo G3 animais com ECC elevado sem tumor de mama e no grupo G4 animais com ECC elevado com tumor de mama. Em geral todos os grupos de animais obesos apresentaram níveis séricos elevados estatisticamente significativos de triglicerídeos, colesterol, glicose, frutossamina e leptina quando comparado aos grupos controle. Animais obesos com tumor de mama (G4) apresentaram os níveis mais elevados de leptina, comprovados estatisticamente, comparado com todos os outros grupos. O presente estudo demonstra relação direta entre obesidade e dislipidemia, hiperglicemia e hiperleptinemia em cães. Adicionalmente, obesidade e hiperleptinemia podem estar associadas com aumento da predisposição ao desenvolvimento de tumores de mama. Esses achados representam importante contribuição uma vez que fornecem dados a uma área pobremente estudada em medicina veterinária. Os conhecimentos gerados neste estudo abrem novas perspectivas para o melhor entendimento de doenças, como a obesidade e os tumores de mama, cada vez mais frequentemente descritas em cães. Finalmente, os resultados apresentados são semelhantes ao descritos na mulher, o que potencializa a aplicação do conhecimento gerado em estudos de obesidade e tumores mamários em cães para o ser humano.

Palavras-chave: caninos, obesidade, glicose, frutossamina, triglicerídeo, colesterol, leptina, tumor de mama.

ABSTRACT

This study evaluated cholesterol, tryglycerides, glucose, fructosamine and leptin blood profile in obese biches with and without mammary tumors. Sixty animals were divided in 4 groups each containing 15 biches. Groups G1 and G2 were the controls. The G1 was composed of animals with ideal body score condition (BSC) with no mammary gland tumor, G2 animals with ideal BSC with mammary gland tumos, G3 animals with high BSC (obese) and with no mammary gland tumor and G4 animals with high BSC and with mammary gland tumor. In general all groups represented by obese animals presented elevated tryglycerides, cholesterol, glucose, fructosamine and leptin blood levels statistically significant when compared with the control groups. Obese animals with mammary gland tumors (G4) had the highest levels of leptin, compared to all other groups. The current study demonstrates relashinship between obesity and dyslipedemia, glycemia and hyperleptinemia in dogs. In addition, obesity and hyperleptinemia might be associated with higher predisposition of mammary gland tumor development. These findings represent important contribution since they add data to a poorly studied field in veterinary medicine. This knowledge opens new perspectives for a better understanding of diseases, such as obesity and mammary gland tumors, which are currently more and more frequent in canines. Furthermore, the results presented here are similar to those described in the woman, which potencializes the application of the knowledge gained from studies of obesity and mammary gland tumors in dogs to the human being.

Keywords: canine, obesity, glucose, fructosamine, tryglyceride, cholesterol, leptin, mammary gland tumor.

1. INTRODUÇÃO

A obesidade em humanos é uma doença crônica, multifatorial, englobando aspectos bioquímicos, alimentares e genéticos (ADES & KERBAUY, 2002). Não só na população humana, sua incidência também tem crescido expressivamente em cães nos últimos anos, afetando atualmente cerca de mais de 22% da população de cães (DAGLI, 2008; PAULA, 2010). É considerada uma doença nutricional que prejudica as funções fisiológicas, levando ao aumento do risco a doenças cardiovasculares e *diabetes mellitus* (MCGREEVY et al., 2005; LUND et al., 2006). Há inúmeros estudos correlacionando obesidade com o desenvolvimento de tumores no cólon, tireoide, sistema urinário, mama, endométrio e esôfago no homem (CALLE, 2004). Entretanto, esta relação não está muito bem caracterizada em animais (CLEARY, 2010). Em cadelas as neoplasias mamárias se destacam pela frequência elevada e por serem em sua maioria, malignas. Semelhanças entre os tumores mamários na mulher e na cadela favorecem o uso destes animais como modelo experimental em estudos relacionados com os fatores de risco, desenvolvimento e prognóstico destas neoplasias, com potencial aplicação destes conhecimentos em medicina humana (CASSALI, 2000; FELICIANO et al., 2012).

Estudos recentes têm demonstrado relação entre obesidade e aumento da expressão de leptina com neoplasias mamárias na mulher (TESSITORE et al., 2000; COSKUN, 2003; HARVIE, 2003; HU et al., 2003; TESSITORE et al., 2004; ISHIKAWA, 2004; SAUTER et al., 2004; GAROFALO & SURMACZ, 2006; GAROFALO, 2006; CHEN, 2006; MIYOSHI et al., 2006; GONZALEZ, 2009; JARDÉ et al., 2009; CLEARY, 2010; JARDÉ et al., 2011; BENITEZ, et al., 2012). Em cadelas foi descrito um estudo preliminar (RESSEL et al., 2012) onde leptina e seu receptor foram encontrados em tecidos mamários normais, hiperplásicos e neoplásicos.

Dada a alta prevalência da obesidade e de tumores mamários em caninos, é de extrema importância a implementação de estudos que visem um melhor entendimento do papel da leptina na obesidade canina assim como no aumento da incidência de tumores de mama na espécie.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. OBESIDADE CANINA

A obesidade é definida como armazenamento excessivo da gordura corporal que pode comprometer o funcionamento do organismo. Atualmente é considerada a doença nutricional mais frequente (GERMAN, 2009), com incidência situando-se entre 22% e 40% dentro a população de animais de companhia (McGreevy et al., 2005; LUND et al., 2006).

De certa forma, o aumento da obesidade na população humana, reflete negativamente na população canina, onde a frequência desta desordem nutricional está cada vez maior. Isso pode ser explicado, em partes, pelo aumento da humanização dos animais (OLIVEIRA, 2006). Jericó et al. (2009) citam que a obesidade está associado à fatores sociais e ambientais, mas é principalmente, considerada uma doença multifatorial. Bland et al. (2009) também demonstram claras evidências da inter-relação entre ingestão de alimentos, exercícios e fatores sociais na gênese da obesidade.

2.1.1. Tecido adiposo

O tecido adiposo é essencialmente composto pelos adipócitos, além de fibroblastos, macrófagos e células endoteliais (SIKARIS, 2004). Os adipócitos produzem as adipocinas, substâncias protéicas responsáveis por diversas ações em processos fisiológicos e metabólicos (LIMA, 2008; ALANIZ et al., 2006). Atualmente, não possui apenas função de reserva energética, mas também é um órgão endócrino que controla o consumo alimentar (LIMA, 2008). Radin et al. (2009) reconhecem o tecido adiposo como sendo um órgão endócrino complexo, liberador de substâncias que parecem regular o metabolismo energético, o funcionamento cardiovascular e a função imunológica. Os mesmos autores citam que a produção anormal de adipocinas em indivíduos obesos está relacionada a morbididades como síndrome metabólica, aterosclerose, doenças cardiovasculares, neoplasias e *diabetes mellitus* tipo II.

O tecido adiposo sofre controle do sistema nervoso simpático e parassimpático com ações catabólicas (lipólise) e anabólicas, respectivamente. (ALANIZ et al., 2006).

2.1.2. Tecido adiposo e produção de leptina

Segundo Alaniz et al. (2006) e Zoran (2010), o crescente estudo sobre obesidade vem conflagrando noções a respeito do tecido adiposo e suas funções atualmente descobertas relacionadas à produção de substâncias endócrinas que atuarão em processos fisiológicos e patológicos do organismo. O tecido adiposo, além de possuir função de estoque energético, produz grupos de substâncias moleculares, as adipocinas, envolvidas em processos inflamatórios. Estas substâncias ocasionam um estado de inflamação generalizada discreta (GAYET et al., 2004; INADERA, 2008), podendo, inclusive estar relacionada com sensibilidade insulínica, desordens lipídicas, metabólicas e respiratórias, além de cardiopatias (GRECO, 2002; GAYET et al., 2004; GERMAN, 2006; GERMAN et al., 2009). Laflamme (2012) também relaciona o estado inflamatório de baixo grau associado à obesidade com algumas doenças crônicas, como cardiopatias, *diabetes mellitus* e osteoartrites. Ainda, segundo Havel (2004), adipocinas podem afetar homeostase energética, angiogênese, proteção vascular e coagulação sanguínea.

German et al. (2010) descrevem várias substâncias produzidas pelos adipócitos, tais como leptina, adiponectina, fator de necrose tumoral, interleucina – 6, quimiocinas, proteínas de fase aguda, fatores hemostáticos e hemodinâmicos, além de neurotrofinas. Algumas das adipocinas e substâncias endócrinas produzidas pelo tecido adiposo podem ser visualizadas na figura 1.

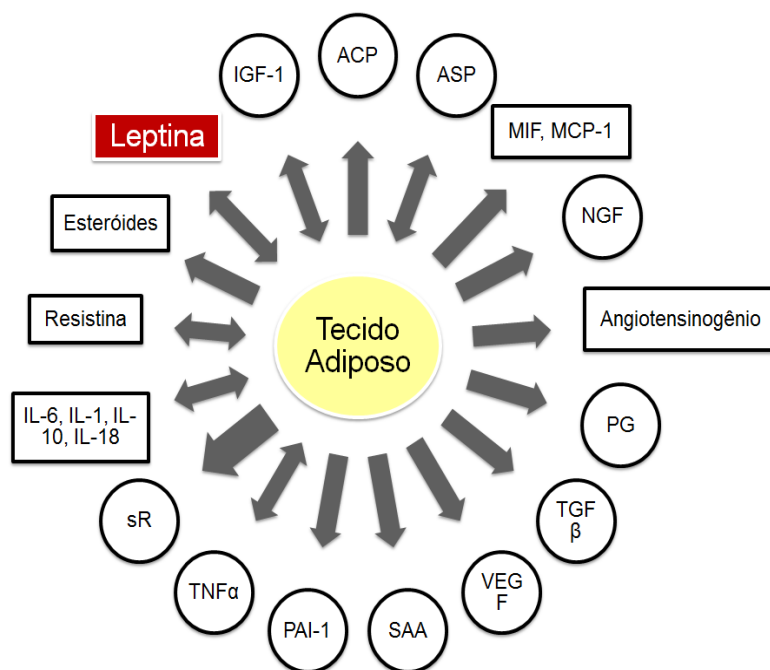


Figura 1: Ilustração de algumas das diversas citocinas e substâncias endócrinas produzidas pelo tecido adiposo (adaptado de ZORAN, 2010). ASP: proteína estimulante de acilação; MCP: proteína quimiotática de monócitos; MIF: fator inibidor de macrófagos; NGF: fator de crescimento neural; PG: prostaglandina; TGF: fator de crescimento tumoral; VEGF: fator de crescimento endotelial vascular; SAA: soro amilóide A; PAI: inibidor do ativador de plaquetas; TNF: Fator de necrose tumoral; sR: receptor de serina; IL: Interleucina; IGF: fator de crescimento semelhante à insulina.

A leptina, uma adipocitocina, é um hormônio proteico de 167 aminoácidos (ISHIOKA et al., 2002; DIEZ et al., 2004; JEUNETTE et al., 2005; ISHIOKA et al., 2006; GAYET et al., 2008) e é considerado um hormônio anti obesidade por ter efeitos iniciais sobre a fome e saciedade. A leptina é produto do gene da obesidade (*ob*) com transcrição e tradução no tecido adiposo (ALANIZ et al., 2006), se expressando principalmente no tecido adiposo branco (ISHIOKA et al., 2002; DIEZ et al., 2004; JEUNETTE et al., 2005; ISHIOKA et al., 2006; GAYET et al., 2008). O gene *ob* foi inicialmente isolado em tecido adiposo de camundongos, mas posteriormente foi também encontrado na placenta produzindo a leptina (ZHANG et al., 1994 apud SHIGEHIRO et al., 2002). Muitos trabalhos têm demonstrado que os níveis séricos mais elevados de leptina estão relacionados com quantidade maiores de tecido adiposo estocado em cães (ISHIOKA et al., 2002; DIEZ et al., 2004; JEUNETTE et al., 2005; ALANIZ et al., 2006; NISHII et al., 2006; ISHIOKA et al., 2006; GAYET et al., 2008; KIL et al., 2010). Em estudo realizado por Sagawa et al. (2002) com cães da raça Beagle, os níveis séricos de leptina mostraram relação

positiva com o teor de gordura corpórea, já relatado em humanos e roedores. Posteriormente Ishioka et al. (2007) não observaram influência de raça, idade ou sexo nos níveis séricos de leptina. A leptina também tem sido descrita em muitos trabalhos como um marcador confiável de adiposidade em cães (SAGAWA et al., 2002; ISHIOKA et al., 2007).

A produção de leptina pelos adipócitos ocorre logo após a ingestão de alimentos, momento em que os níveis de insulina sérica tendem a se elevar (MARTIN et al., 2001). Neste período pós-prandial a leptina tem funções metabólicas importantes, como o aumento na produção de calor corpóreo e ativação dos mecanismos de saciedade, com objetivo, ao final, de manutenção e controle do estado corpóreo do indivíduo (APPLETON et al., 2001; RICCI & BEVILACQUA, 2012). Em situações de aumento do tecido adiposo, as maiores quantidades de leptina induzem um maior gasto energético e um menor consumo de alimentos representados na figura 2.

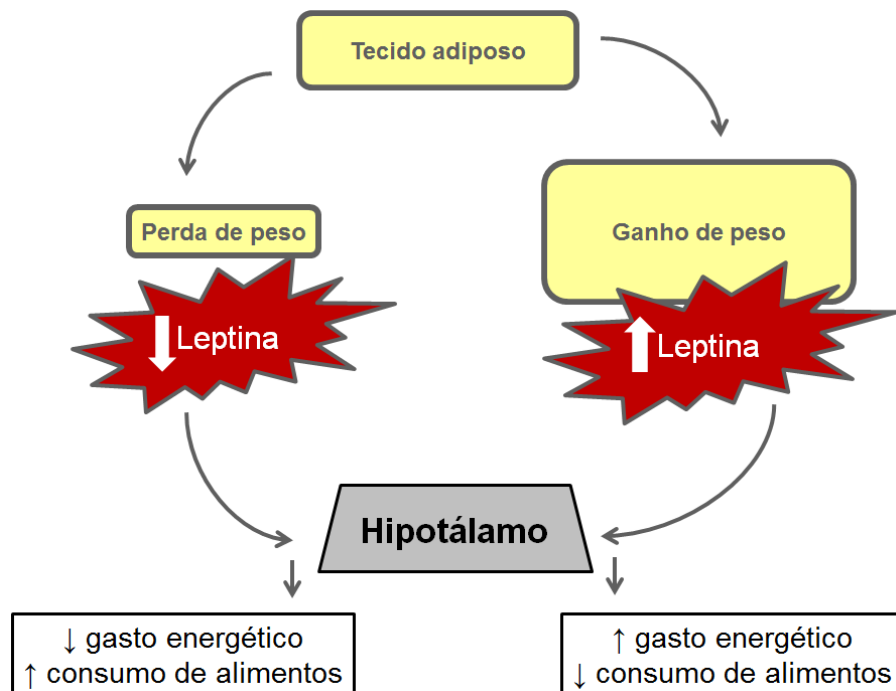


Figura 2: Ilustração dos efeitos hipotalâmicos associados à leptina (adaptado de RICCI & BEVILACQUA, 2012).

Sabe-se que o principal modulador do sinal hipotalâmico da leptina é a insulina. A ação moduladora da insulina parece ser de controle de vias paralelas de

sinalização celular para a transdução do sinal da leptina sobre o hipotálamo. A ativação de vias de sinalização hipotalâmicas regula a liberação de neurotransmissores relacionados ao controle da fome e termogênese. A insulina, colateralmente a leptina, controla o ritmo de descargas neuronais modulando a liberação de tais neurotransmissores nas fendas sinápticas com sinapses efetoras (VELLOSO, 2006). Segundo Velloso (2006), os níveis de leptina assim como de insulina tendem a reduzir em indivíduos em jejum. Os efeitos da insulina e leptina, tanto em situações de jejum quanto posteriormente a ingestão de alimentos, assim como na obesidade, estão ilustrados nas figuras 3 e 4.

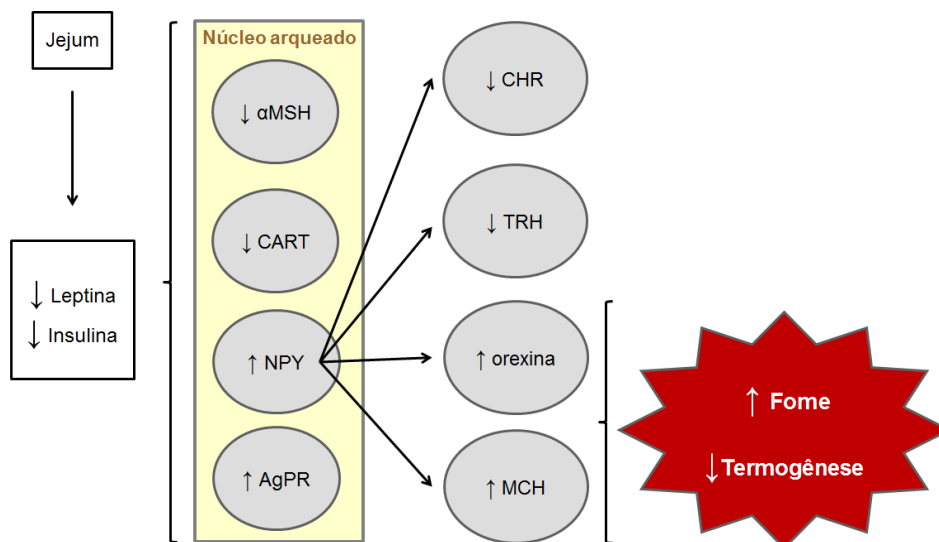


Figura 3: Ilustração sobre os efeitos da leptina e insulina sobre os mecanismos hipotalâmicos de fome e saciedade em situações de jejum alimentar (adaptado de Velloso, 2006). NPY: neuropeptídeo Y; αMSH: hormônio alfa melanócito estimulante; CART: transcrito regulado por cocaína e anfetamina; AgPR: agouti-related protein; CRH: hormônio liberador de corticotropina; TRH: hormônio liberador de tireotropina; MCH: hormônio concentrador de melanina

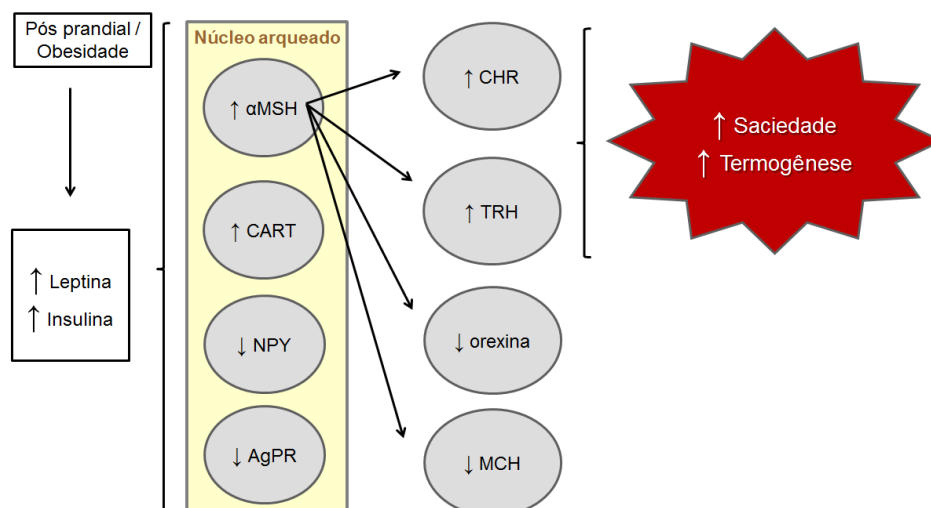


Figura 4: Ilustração sobre os efeitos da leptina e insulina sobre os mecanismos hipotalâmicos de fome e saciedade em situações pós - prandiais e obesidade (adaptado de Velloso, 2006). NPY: neuropeptídeo Y; α MSH: hormônio alfa melanócito estimulante; CART: transcrito regulado por cocaína e anfetamina; AgPR: agouti-related protein; CRH: hormônio liberador de corticotropina; TRH: hormônio liberador de tireotropina; MCH: hormônio concentrador de melanina

Em princípio, estes efeitos sobre o hipotálamo parecem ser benéficos ao organismo, mas, em situações de obesidade, que culmina com excesso de produção de leptina (MARTIN et al., 2001), a diminuição na ingestão alimentar e o maior gasto energético não acontecem, podendo ser devido a uma resistência leptínica em indivíduos com grau de obesidade elevado (MAFFEI et al., 1995; CONSIDINE et al., 1996). Nishi et al. (2006), ao estudarem os valores séricos de leptina pós-prandial, concluíram que, após 4 horas da ingestão de alimentos, os níveis de leptina aumentaram significativamente, permanecendo alto durante um período de 10 horas. Camundongos com genótipo *ob/ob*, considerados mutantes e deficientes de leptina, possuem polifagia que melhora após administração de leptina, mostrando sua ação inibitória sobre o centro hipotalâmico da fome (STROBEL et al., 1998 apud SHIGEHIRO et al., 2002).

Estudos demonstram que a leptina pode ser a ligação entre a obesidade e a hiperatividade simpática (CAVALHEIRA, 2008), mudando a antiga teoria lipostática do controle do consumo alimentar, que mostrava uma possível ação dos ácidos graxos circulantes em conjunto com a insulina sobre o centro da saciedade. Sabe-se

que a leptina produzida pelo tecido adiposo em conjunto com a insulina é capaz de gerar efeitos anorexigênicos (LIMA, 2008).

Insulina, glicocorticóides, estrogênios e TNF-alfa tendem a estimular produção e secreção de leptina. Em contrapartida, catecolaminas e androgênios reduzem os níveis sanguíneos de leptina (WAJCHENBERG, 2000).

Lopes et al. (2004) em um estudo com ratos, observaram a associação de hiperfagia, diabetes e obesidade simultaneamente, apresentando ainda hiperinsulinemia e intolerância à glicose, tais alterações provavelmente devido à ausência de leptina ou à presença desta adipocina não funcional. Parece que ocorre uma resistência à leptina associada à obesidade, como consequência de alterações no receptor da leptina. Alterações semelhantes foram observadas por Appleton et al. (2001) onde os autores citam resistência insulínica em felinos, desordem comum em situações de obesidade, associada às elevações séricas de leptina. Guimarães et al. (2007), confirmam o envolvimento do aumento de gordura corpórea com a resistência insulínica e menor tolerância a glicose.

O fator de necrose tumoral (TNF α) e a interleucina 6 (IL-6), exemplos de adipocinas produzidas em estados de obesidade podem afetar negativamente a sensibilidade insulínica (GAYET et al., 2004; LAFLAMME, 2012). Velloso (2006) cita que esta resistência insulínica, além de ocorrer periféricamente, possivelmente também ocorra no hipotálamo, juntamente com resistência leptínica.

Para mensuração de leptina plasmática, soro e plasma podem ser utilizados. Teste de ELISA espécie específica possui precisão e linearidade adequadas, servindo para discriminação de baixas e altas concentrações plasmáticas de leptina (TVARIJONAVICIUTE et al., 2011).

2.1.3. Fatores de risco associados à obesidade

A maioria dos proprietários não reconhece que seu animal está acima do peso o que prejudica o tratamento, pois apenas fazem algo a respeito quando são

esclarecidos da existência da enfermidade (MASON, 1970; KIENZLE et al., 1998). Considerada uma doença com caráter multifatorial onde fatores sociais e culturais fazem parte da gênese além dos genéticos, metabólicos, endócrinos e composição energética do alimento. (LEWIS et al., 1994; MONTEIRO, 1999; BURKHOLDER et al., 2000). Sexo, faixa etária, raça e gasto energético também são importantes na gênese da obesidade (CARCIOFI et al., 2005; GERMAN, 2006; DIEZ & NGUYEN, 2006).

Em cães ainda não se sabe o quanto os aspectos genéticos influenciam na gênese da obesidade. Os fatores exógenos exercem papel mais importante neste sentido onde o nível de atividade física e manejo alimentar são os mais importantes (NORRIS et al., 1993; LEWIS et al., 1994; KIENZLE et al., 1998; MARKWELL et al., 2000; BURKHOLDER et al., 2000; ROBERTS et al., 2000).

Animais de meia idade a idosos são mais predispostos (LEWIS et al., 1994; DIEZ & NGUYEN, 2006; LAFLAMME, 2006), ao atingir a maturidade e senilidade, há tendência ao ganho de peso, alterações na composição corpórea devido a uma redução no metabolismo basal (BURKHOLDER et al., 1997). A faixa etária de maior prevalência situa-se entre 5 e 10 anos (LEWIS et al., 1994; DIEZ & NGUYEN, 2006; LAFLAMME, 2006). Nguyen et al. (2006) citam que filhotes possuem 6% de chance de se tornarem obesos, enquanto que adultos possuem 40%.

A obesidade acomete, em maior grau, fêmeas, (SLOTH, 1992; LEWIS et al., 1994; GUIMARÃES & TUDURY, 2006) que representam 60 % da população de cães obesos (JERICÓ et al., 2002). Fêmeas castradas são mais predispostas ao ganho de peso após o procedimento cirúrgico (GERMAN, 2006; DIEZ & NGUYEN, 2006). A castração, na espécie canina, aumenta o risco do desenvolvimento da obesidade, pois devido a menor concentração de hormônios androgênicos, ocorre substituição de massa magra por tecido adiposo (GERMAN, 2006; DIEZ & NGUYEN, 2006). Além disso, sua taxa metabólica reduz, o consumo alimentar aumenta, ocorre falta de estímulo sexual e busca pela cópula o que reduz a atividade física (SALMERI et al., 1991; BURKHOLDER et al., 1997; CENTER, 2003), sendo animais mais sedentários após a gonadectomia. Em estudo realizado por Brunetto et al. (2011), de 30 animais obesos avaliados, 76,7% eram não castrados e 23,3% eram castrados.

Com relação ao sexo, 73,3% eram fêmeas e 26,7% eram machos. Nguyen et al. (2006) citam que animais castrados devem reduzir a ingestão calórica em até 30% para prevenção da obesidade.

Distúrbios endócrinos, como hipotireoidismo, podem desencadear a obesidade sendo que, em média, 40% dos animais nessas condições se tornam obesos (NGUYEN et al., 2006).

Segundo Nguyen et al. (2006) animais que vivem em apartamento possuem 31% de chance de se tornarem obesos enquanto que animais que vivem em casa com espaço possuem 23% de chance de se tornarem obesos.

Segundo Markwell et al. (1994) o proprietário tem importante papel na gênese da obesidade. As dificuldades psicológicas oriundas dos proprietários causam o não comprometimento em um programa de perda de peso (SLOTH, 1992; BURKHOLDER et al., 1997). Proprietários tendem a acreditar que a melhor forma de interagir com seu animal é fornecendo alimento em demasia (KIENZLE et al., 1998).

Uma maior incidência de obesidade é observada em cães que se alimentam com comida caseira (SLOTH, 1992). Por outro lado, Edney et al. (1986) e Kienzle et al (1998) não observaram diferença na incidência de obesidade em animais alimentados com rações comerciais ou com comida caseira. Dentre os fatores dietéticos, é importante estar atento a densidade energética, a quantidade de refeições diárias e quantidade de alimento fornecido, consumo de petiscos, além dos restos de comida disponibilizados ao animal, pois, todos estes fatores, também estão envolvidos no desenvolvimento da obesidade (GERMAN, 2006).

2.2. Avaliação do escore de condição corporal

A avaliação da condição corporal permite reconhecer e quantificar a obesidade. Atualmente, os métodos mais práticos e utilizados para isto são: classificação por Escore de Condição Corporal (ECC), avaliação do peso corporal relativo (PCR), análise morfométrica e IMC (Índice de massa corporal) (BURKHOLDER et al., 1997; GRECO, 2002).

Segundo Müller et al (2008), o sistema baseado na inspeção e palpação do paciente, elaborado por Laflamme (1997), é o método mais utilizado na atualidade. O mesmo autor ainda salienta que não existe avaliação acurada para sobrepeso e obesidade, o que torna importante a utilização de vários métodos para determinação da condição corpórea de um animal individualmente. O método de palpação do tórax e abdômen também é proposto por Case et al (1998).

2.2.1. Escore de condição corporal (ECC)

O ECC é usado para avaliar a gordura corporal podendo utilizar vários sistemas para tal, como escala que vai de 1 a 9 (LAFLAMME, 1997; GERMAN et al, 2006; TACTHER et al, 2010). Para determinação do ECC, são empregados métodos de escalas de 1 a 5 (EDNAY et al., 1986) e de 1 a 9 (LAFLAMME, 1997), sendo 1 o animal caquético e 5 ou 9 aquele extremamente obeso. Para isso realiza-se palpação de costelas e avaliação de cintura e gordura inguinal e abdominal. (WOLFSHEIMER, 2004). As características corpóreas que devem ser observadas no momento da palpação e visualização corpórea estão descritas na tabela 1.

Tabela 1: Escala de classificação do escore de condição corporal (ECC) utilizada no estudo.

| Grau e Características |
|---|
| Grau 1 – Costelas, vértebras lombares, ossos pélvicos e todas as saliências ósseas visíveis à distância. Não há gordura corporal discernível. Perda evidente de massa muscular. |
| Grau 2 – Costelas, vértebras lombares e ossos pélvicos facilmente visíveis. Não há gordura palpável. Algumas saliências ósseas podem estar visíveis. Perda mínima de massa muscular. |
| Grau 3 – Costelas facilmente palpáveis podem estar visíveis sem gordura palpável. Visível o topo das vértebras lombares. Os ossos pélvicos começam a ficar visíveis. Cintura e reentrância abdominal evidente. |
| Grau 4 – Costelas facilmente palpáveis como mínima cobertura de gordura. Vista de cima, a cintura é facilmente observada. Reentrância abdominal evidente. |
| Grau 5 – Costelas palpáveis sem excessiva cobertura de gordura. |

Abdômen retraído quando visto de lado.

Grau 6 – Costelas palpáveis com leve excesso de cobertura de gordura. A cintura é visível quando vista de cima mas não acentuada. Reentrância abdominal evidente.

Grau 7 – Costelas palpáveis com dificuldade; grande cobertura de gordura. Depósitos de gordura evidentes sobre a área lombar e base da cauda. Ausência de cintura ou apenas visível. A reentrância abdominal pode estar presente.

Grau 8 – Impossível palpar as costelas situadas sob cobertura de gordura muito densa ou palpáveis somente com pressão acentuada. Grandes depósitos de gordura sobre a área lombar e base da cauda. Cintura inexistente. Não há reentrância abdominal. Poderá existir distensão abdominal evidente.

Grau 9 – Maciços depósitos de gordura sobre o tórax, espinha e base da cauda. Depósitos de gordura no pescoço e membros. Distensão abdominal evidente.

Fonte: Laflamme (1997) APUD Muller et al (2008) modificado.

2.2.2. Medição morfométrica

Neste método é empregada uma fita métrica sem a utilização de pressão excessiva durante a mensuração, durante a qual os cães devem ficar de pé, formando um ângulo reto (BURKHOLDER et al., 2000; WOLFSHEIMER, 2004). Segundo Burkholder (2000), os valores da medição são inseridos na equação a seguir para determinação da % de gordura corporal: **% GC em cadelas = - 1,7 (CRcm) + 0,93 (CPcm) + 5**. Onde % GC significa porcentagem de gordura corporal, CR significa a longitude do membro posterior direito desde a tuberosidade calcânea até a metade do ligamento patelar e CP significa circunferência pelviana. (Fig. 5). Segundo Burkholder et al. (2000) os valores < 5, de 5 a 15, de 16 a 25, 26 a 35 e > 35 representam respectivamente animais caquéticos, magros, com peso ideal, acima do peso e obesos mórbidos.

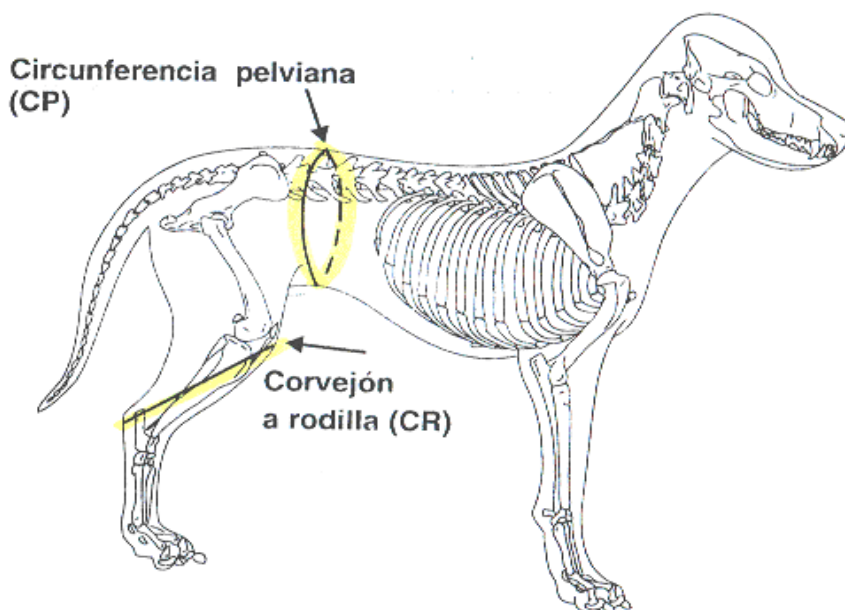


Figura 5: Medição morfométricas em cães (adaptado de Burkholder et al. (2000).

2.2.3. Índice de massa corporal canino (IMCC)

Segundo Muller et al. (2008), o IMC é largamente utilizado em humanos e atualmente está sendo empregado em cães com a denominação IMCC (Índice de massa corporal canino). Em um estudo com 246 cães de médio porte, o autor adaptou a utilização do IMC para cães utilizando a altura e o peso corporal do animal. Como referência, “altura” refere-se à distância que vai da articulação atlanto-occipital até o solo imediatamente atrás dos membros posteriores. A fita métrica, no momento da mensuração, deve passar apoiada sobre a base da cauda (última vértebra sacral), em posição medial às tuberosidades ilíacas, sobre o dorso do animal. Após obtenção dos valores, utiliza-se a fórmula: Índice de Massa Corporal Canino (IMCC) = peso corporal (kg)/(estatura em m)².

2.3. Problemas associados com a obesidade

Entre os efeitos deletérios do excesso de peso são descritos a síndrome metabólica, hiperlipidemia e hiperglicemia. Outras enfermidades frequentemente descritas são distúrbios do aparelho locomotor, *diabetes mellitus* tipo II (onde o animal desenvolve resistência periférica à insulina), disfunções imunológicas (JOSHUA, 1970; FISER et al. 1972.; HAND et al., 1989) e endócrinas (ZORAN, 2010). A obesidade também está associada à distocia, dificuldade respiratória, intolerância a exercícios, problemas dermatológicos, tumores e redução na capacidade reprodutiva (JOSHUA, 1970; LEWIS et al., 1994; BURKHOLDER, 2000; CARCIOFI & PRADA, 2004).

2.3.1. Síndrome metabólica

Dentre as alterações da síndrome metabólica incluem-se hipertensão, dislipidemia e hiperglicemia. Estas alterações correlacionam-se com eixos endócrinos hipotalâmicos onde a obesidade parece aumentar ação do eixo hipotálamo – hipófise – adrenal. (MATOS et al, 2003). Segundo De Marco & Ruiz (2012), a síndrome metabólica pode ser investigada através de pelo menos duas alterações relacionadas à síndrome: triglicérides séricos maior que 100 mg/dL, hipertensão arterial sistólica maior ou igual a 160 mmHg, colesterol sérico maior que 270 mg/dL e índice HOMA (Homeostasis Model Assessment) maior que 2,7. Neste mesmo estudo, a manifestação concomitante de resistência insulínica, hipertensão arterial e/ou hiperlipidemia em cães obesos variou de 30 a 80% dos casos. A implicação de leptina e adiponectina na patogênese das alterações relacionadas à síndrome metabólica está bem documentada em humanos, entretanto em medicina veterinária a patogênese da síndrome metabólica é pouco estudada (RICCI & BEVILACQUA, 2012).

2.3.2. Hiperlipidemia

A hiperlipidemia é definida como aumento da concentração de lipídeos no sangue. Este aumento pode ser de triglicerídeos, colesterol ou ambos. As alterações de lipídeos séricos podem ocorrer devido a defeitos inicialmente no metabolismo das lipoproteínas ou devido a alguma doença sistêmica (JOHNSON, 2005; SCHENK, 2006). Na avaliação de dislipidemias, a obtenção dos valores séricos de triglicerídeos e colesterol total é útil e a mais utilizada clinicamente para determinação desta alteração metabólica, espelhando, mesmo que indiretamente, o conteúdo plasmático das lipoproteínas (JOHNSON, 2005). Utiliza-se teste enzimático do soro ou plasma em jejum de 14 horas (JOHNSON, 1992; BARRIE et al, 1993; ZICKER et al, 2000). Segundo Kaneko (1997), os valores séricos normais de colesterol total para cães variam de 130 a 270mg/dL. Valores de triglicerídeos séricos variam de 50 a 140 mg.dL⁻¹ segundo Zicker et al (2000), de 80 a 150 mg.dL⁻¹ segundo Kaneko et al (1997) e de 20 a 112 mg.dL⁻¹ segundo Pinhão et al (2010).

Segundo Whitney (2000), valores de colesterol entre 300 mg.dL⁻¹ e 500 mg.dL⁻¹ são considerados pouco elevados, entre 500 mg.dL⁻¹ e 750 mg.dL⁻¹ moderadamente elevados e acima de 750 mg.dL⁻¹ como acentuadamente elevados (WHITNEY, 2000). Segundo Hess et al (2003) apenas níveis de colesterol acima de 750 mg.dL⁻¹ predispõe os cães a desenvolverem aterosclerose, ficam mais susceptíveis à *diabetes mellitus* e hipotireoidismo.

Em cães, a lipoproteína com maior concentração sanguínea é a HDL (High Density Lipoproteins – lipoproteína de alta densidade) o que de certa forma é benéfico, pois reduz as chances de aparecimento de distúrbios como aterosclerose. As dislipidemias podem elevar as chances de problemas oculares em cães, quando hipercolesterolêmicos, além de maior predisposição a pancreatite, quando hipertriglicerínêmicos (JEUSETTE et al., 2005). Verkest et al (2012) analisaram 35 cães, sendo 25 com sobrepeso e 10 obesos, com o objetivo de verificar associação dos níveis séricos de triglicerídeos pós prandial com pancreatite aguda. Os cães com níveis elevados de triglicerídeo pós prandial eram mais propensos a elevação de cPLI (canine pancreatic lipase immunoreactivity), porém não desenvolvem doenças pancreáticas clinicamente importantes.

Brunetto et al (2011) observaram diferença significativa entre os níveis de colesterol de cães com escore de condição corporal 9 (obesos mórbidos) e demais grupos. Com relação aos níveis de triglicerídeos, os cães obesos com escore de condição corporal 8 e 9 apresentaram os maiores valores. Ainda Brunetto et al (2011) descrevem associação entre hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia com o grau de obesidade, sexo feminino, faixa etária acima dos sete anos e gonadectomia. Mazaki-Tovi et al. (2012), ao avaliarem 62 cães também encontrou correlação positiva entre porcentagem de gordura corporal e níveis de triglicerídeos séricos.

2.3.3. Alterações glicêmicas

Aumentos na gordura corporal estão relacionados a alterações fisiológicas (GAYET et al., 2004) tais como redução na tolerância à glicose, diabetes tipo II (GERMAN, 2006; GERMAN et al., 2009) e resistência insulínica (CATCHPOLE et al., 2005; GERMAN, 2006; GERMAN et al., 2009; KIL et al., 2010). Apesar da resistência insulínica, esta não parece ser fator de risco para *diabetes mellitus* em cães (CATCHPOLE et al., 2005). Apesar disso, segundo Rand et al (2004), o excesso de peso aumenta a predisposição à pancreatite, causa de quase ¼ dos casos de *diabetes mellitus*. Estas alterações estão associadas, direta ou indiretamente, a maior produção de citocinas pelo tecido adiposo em situação de obesidade (GERMAN, 2006; GERMAN et al., 2009).

Entende-se por resistência insulínica uma redução na capacidade do hormônio hipoglicemiante, insulina, em estimular o uso de glicose pelas células. Em humanos, se a secreção de insulina não compensa adequadamente a resistência, hiperglicemia de jejum se desenvolve o que eleva a probabilidade de desenvolvimento de diabetes (The American Diabetes Association, 2008). Faltam estudos para demonstração persuasiva da existência de diabetes tipo II na espécie canina (HAVEL, 2001; CATCHPOLE et al., 2005). Alguns estudos indicam que cães obesos com resistência insulínica tendem a manter sua concentração de glicose dentro da normalidade, o que pode ser explicado pelo aumento compensatório da produção de insulina (VERKEST et al., 2011). Segundo German e colaboradores

(2009), ainda não está claro que cães se tornam hiperglicêmicos em casos de obesidade de ocorrência natural. Em estudo conduzido por Verkest et al. (2011) com objetivo de avaliar a importância de adipocitocina na patofisiologia de adiposidade de cães e associação com alterações na homeostase da glicose, concentração de insulina plasmática e sensibilidade insulínica. Apesar dos autores não terem encontrado hiperglicemia na grande maioria dos cães obesos, estes tinham uma maior tendência para o aumento das concentrações de glicose sanguínea.

Segundo Brobst (1997), a medição da glicemia pode ser feita através glicosímetro com fitas próprias utilizando-se uma a duas gotas de sangue. Os níveis séricos glicêmicos para cães é de 65 a 110 mg.dL⁻¹ (BROBST, 1997). Segundo Pinhão et al. (2010) os valores glicêmicos normais variam de 80 a 120 mg.dL⁻¹.

É importante salientar que apenas a detecção de hiperglicemia não enreda o diagnóstico de diabetes (VEIGA, 2005). Outras avaliações no que tange o metabolismo dos carboidratos vêm sendo aprimorada ao longo dos anos na tentativa de aperfeiçoar as avaliações glicêmicas. A este respeito, as mensurações séricas de frutossamina e hemoglobina glicada são úteis na monitoração da glicemia sanguínea (LOSTE & MARCA, 2001). A frutossamina surge a partir de reações não enzimáticas entre as proteínas plasmáticas e glicose sanguínea sendo diretamente dependente da concentração de glicose sanguínea (KAWAMOTO et al., 1992; JENSEN & AAES, 1992) e da concentração e composição sanguínea de proteínas plasmáticas (LOSTE & MARCA, 1999). Sendo assim, em cães a frutossamina reflete a conjuntura glicêmica de 1 a 3 semanas anteriores à mensuração (KAWAMOTO et al., 1992; JENSEN & AAES, 1992). Os valores de referência para frutossamina variam entre 213 e 352 µmol/L segundo Zaragoza (1998) APUD Lose & Marca (1999) e de 207 a 340 µmol/L segundo Reusch et al., (2002). Outro fator importante no diagnóstico da diabetes é a detecção de glicosúria decorrente da concentração elevada de glicose sérica (NELSON e COUTO, 2001), que, quando maior que 220 mg.dL⁻¹, excede a capacidade de reabsorção renal (CUNNINGHAM e KLEIN, 2008). Sinais subsequentes à glicosúria, que ocasiona diurese osmótica, incluem poliúria e polidipsia, sinais típicos de hiperglicemia (NELSON e COUTO, 2001).

2.3.4. Neoplasias

A correlação entre obesidade e o aparecimento de neoplasias já é bem descrita no homem (CALLE, 2004). Nos Estados Unidos, estima-se que 14,5% das mortalidades devido a neoplasias são por consequência da elevação do peso corporal. Dentre os órgãos afetados estão os rins, trato gastrointestinal e glândula mamária (CALLE, 2004), sendo este último o local mais comum de aparecimento de neoplasma (SPENCER, 2003). Em 1989, Glickman et al estudaram os efeitos da obesidade sobre o desenvolvimento de carcinomas de bexiga encontrando correlações positivas. Withrow e Vail (2007) correlacionam escore corporal com desenvolvimento de neoplasia mamária onde menor incidência foi encontrada em fêmeas não obesas, castradas, entre 9 e 12 anos de idade. Segundo De Nardi (2002) a obesidade, muitas vezes relacionada ao consumo excessivo de gordura, é importante fator de risco no desenvolvimento de tumor mamário.

Ressel et al. (2012) estudando a leptina e seu receptor ObR em animais normais, com hiperplasia mamária e neoplasias mamária, detectou expressão maior de receptores em tumores mamários benignos e carcinomas complexos, quando comparados a tecidos mamários normais e hiperplásicos.

Tumores esofágicos e carcinomas hepatocelulares em humanos têm sido associados aos níveis elevados de leptina, comum em pacientes obesos (Redinger, 2007).

Segundo Kim e Popkin (2006), a leptina pode aumentar a proliferação celular através da estimulação de IGF – 1 (fator de crescimento semelhante à insulina) além de estimular angiogênese (Renehan et al., 2006).

2.4. NEOPLASIA MAMÁRIA

Atualmente observa-se uma maior longevidade dos animais, muito relacionada ao consumo de dietas de melhor qualidade, evolução dos mecanismos

diagnósticos, terapêutica e prevenção (vacinas) (DE NARDI et al., 2002; FILHO et al., 2010). Com o aumento da longevidade, aumenta-se também a prevalência e incidência de neoplasias na espécie canina (DE NARDI et al., 2002; GOSMIDE et al., 2009; FILHO et al., 2010).

Segundo Merlo (2008), a neoplasia mamária possui uma maior representação dentre as neoplasias caninas, podendo chegar a 70% dos casos. Estima-se que o risco da neoplasia ter caráter maligno é de 41% a 53%, onde 50% desses são carcinomas (WITHROW e VAIL, 2007).

Em mulheres, a neoplasia mamária é considerada a mais comum onde metade dos casos possuem caráter maligno (CASSALI, 2000). Considera-se que cerca de 40 a 50% dos tumores mamários em cadelas possuam caráter maligno (SORENMO, 2003; LEE et al., 2004; PIEKARZ et al., 2008; QIU et al., 2008; HSU et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2009). Essa doença atinge pessoas e animais do mundo inteiro causando óbito milhares de mulheres e cadelas todos os anos (FERNANDES, 2008).

Dentre os diversos fatores de risco na carcinogênese mamária, a produção de hormônios sexuais é citada um dos mais importantes (WITHROW e VAIL, 2007). A mesma informação já foi descrita por Fonseca et al (2000), que descreve os hormônios sexuais, principalmente o estrógeno, ao surgimento de neoplasias mamárias. O mesmo autor relata que, na fase de pro-estro e estro do ciclo estral, as cadelas apresentavam variação de tamanho das mamas o que pode indicar efeitos estrogênicos sobre o órgão. Motta (2008) descreve que, além dos hormônios estrogênicos, a progesterona e o hormônio de crescimento podem estar envolvidos, caracterizando as neoplasias mamárias como hormônio dependentes.

Em cães, uma das espécies mais impressionáveis ao desenvolvimento espontâneo de tumores (DAGLI, 2008), as neoplasias mamárias possuem características análogas às da mulher no que tange a epidemiologia e as propriedades genéticas, biológicas (CASSALI, 2000) e clínicas (CASSALI, 2000; FELICIANO et al., 2012), e em fatores como morfologia, receptores de estrógeno e progesterona nas células tumorais, características metastáticas, hereditariedade e

fator protetor relacionado à ovário-histerectomia (FELICIANO et al., 2012), podendo ser utilizadas para estudos comparativos entre as espécies citadas (CASSALI, 2000; QUEIROGA & LOPES, 2002; SORENMO, 2003; SILVA et al., 2004; DAGLI, 2008) e, ainda Basso (2008), devido a alta incidência, o estudo dos neoplasmas mamários em pequenos animais tem se tornado extremamente importante.

2.4.1.1. Obesidade e carcinogênese

O sobrepeso atualmente está inserido como sendo um fator de risco independente (PÉREZ ALENZA, 1998) para o aparecimento de tumor mamário. Além disso, pacientes neoplásicos obesos tendem a ter um prognóstico pior, independente da conjuntura do tumor (CLEARY et al., 2010). Cadelas obesas já nos primeiros anos de vida, mesmo que castradas, possuem maior predisposição ao aparecimento de neoplasia mamária (PÉREZ ALENZA, 1998; PEREZ et al., 2000; RUTTEMAN & KIRPENSTEIJN, 2003). Com isso o efeito da obesidade sobre o risco de tumor mamário é maior no início da vida do animal (HANKINSON et al., 1998; WU et al., 1999; TYMCHUK et al., 2001; CLEARY & GROSSMANN, 2009; SORENMO, 2010), fase também onde os efeitos hormonais no tecido mamário são mais prejudiciais (HANKINSON et al., 1998; WU et al., 1999; TYMCHUK et al., 2001; CLEARY & GROSSMANN, 2009).

Alguns estudos demonstraram que cães com escore corporal ideal tiveram menor ocorrência de câncer onde, tendo manejos nutricionais adequados papel relevante nesta menor incidência (SONNENSCHNEIN, et al., 1991; MacEWEN & WITHROW, 1996; ZUCCARI, 1999). Por outro lado, dietas caseiras, ricas em ácidos graxos, estão envolvidas na maior prevalência de neoplasias e displasias mamárias (PEREZ et al., 2000; RUTTEMAN & KIRPENSTEIJN, 2003). A gordura de origem animal, em homens, parece ser promotora da carcinogênese aumentando os riscos de câncer de mama (JOHNSON, 1990; COTRAN et al., 2000). A ação na carcinogênese explica-se pela influencia dos ácidos graxos nos processos de peroxidação e prejuízos no DNA celular, alterações nos receptores e enzimas de

membrana, além dos efeitos nas taxas de estrogênios circulantes (BARTSCH et al., 1999; GREENWALD, 1999; BURINI, 2002).

Alto consumo energético pelos animais aumenta o armazenamento de gordura subcutânea o que favorece a conversão de andrógenos em estrógenos, fator de desenvolvimento exacerbado das células epiteliais mamárias. O excesso de consumo do colesterol, principalmente em dietas com altos teores de gordura, pode ser convertido em estrógenos no trato gastrointestinal (PINOTTI & TEIXEIRA, 2000).

Em estudo com modelos xenográficos, um tipo de célula tumoral humana, MDA-MB-231, foi introduzida em animais de laboratório alimentados com dois tipos de dieta, uma normocalórica e outra hipercalórica. No grupo alimentado com dieta hipercalórica, houve um aumento de expressão de OB-Rb, assim como um maior nível de Bcl-2, uma proteína anti-apoptótica. Os tumores possuíam características agressivas, indicando que a presença de OB-RB nestas células pode exacerbar o curso patológico (CLEARY et al., 2010)

Apesar da escassez de estudos a respeito dos mecanismos carcinogênicos da neoplasia mamária, sabe-se que a obesidade aumenta a incidência tumoral (SONNENSCHNEIN et al., 1991; HARVIE et al., 2003) ou, até mesmo, favorece o aparecimento do tumor mais precocemente (SONNENSCHNEIN et al., 1991). Queiroga & Lopes (2002) mostraram que cadelas obesas entre os nove e 11 meses de idade, têm maior risco de desenvolvimento de tumores de mama na idade adulta que cadelas não obesas.

Evidências de receptores leptínicos (KONOPLEVA, 1999; ARTWOHL, 2002; FUJITA et al., 2002; LAND et al., 2002), citoplasmáticos e membranosos (ISHIKAWA, 2004 e NKHATA, 2008), em células normais e neoplásicas já foram demonstradas assim como a ação da leptina na inibição da apoptose e na promoção da multiplicação celular (KONOPLEVA, 1999; ARTWOHL, 2002; FUJITA et al., 2002). Os receptores leptinínicos em neoplasias possui inclusive correlação positiva com tamanho do tumor e presença de receptores estrogênicos (JARDE et al., 2008).

O nível elevado de leptina em pessoas obesas resulta no aumento da progressão do câncer de mama por possíveis mecanismos como ação direta da

leptina sobre as células tumorais, através de vias de sinalização, como JAK/STAT3 e até mesmo no envolvimento com receptores estrogênicos (BENITEZ et al., 2012). Ishikawa et al. (2004) relataram possível efeito da leptina na carcinogênese e metástase mamária de forma autócrina, ou seja, as células mamárias teriam a capacidade de produção da citocina, que após difusão intersticial, é captada pela mesmas células produtoras.

Receptores leptínicos em células tumorais mamárias de mulheres já foram identificados (LAND et al., 2002; ISHIKAWA et al., 2004) assim como o prognóstico desfavorável para casos onde verifica-se superexpressão dos mesmos (ISHIKAWA et al., 2004 e LAWLOR et al., 2004), que pode também estar associada à metástase (ISHIKAWA et al., 2004).

Existe ainda correlação positiva entre expressão de receptor leptínico com tamanho tumoral e expressão de receptores estrogênico (GAROFALO et al, 2006; JARDE et al, 2008) que está intimamente envolvido com o prognóstico da doença (NOMURA et al, 1992). Tessitore et al (2004) sugere que a leptina estimula a produção de hormônios sexuais, fator de risco importante na gênese tumoral e propõe que a leptina pode ser usada como um novo marcador prognóstico.

A produção de leptina parece intermediar a produção de Ciclina D1 (CHEN et al., 2006; SAXENA et al., 2007), proteína já descrita como sendo um oncogene, importante atuante no ciclo celular encurtando a fase G1, contribuindo na gênese tumoral (MOTOKURA et al., 1991). A superexpressão de ciclina D1 reduz a sobrevida, sendo considerado fator prognóstico em casos de carcinomas mamário humano (MOTOKURA et al., 1991 e QUON et al., 2001). Em estudo conduzido por Chen et al. (2006), onde os autores analisaram células de tumores mamários humanos do tipo ZR-75-1, a leptina pode estar envolvida também em sub-regulação de p53, gene supressor tumoral.

O efeito positivo da leptina na proliferação celular (LAUD et al., 2002; OKUMURA et al., 2002; DIEUDONNE et al., 2002); SOMASUNDAR et al., 2003; YIN et al., 2004; GAROFALO, 2004; RAY et al., 2007; MAURO, 2007; SAXENA et al., 2007; GROSSMANN et al., 2008; PERERA et al., 2008 e JARDÉ et al., 2009), pode

estar associado a ativação de MAPK, no aumento de expressão de JAK 2, no aumento dos níveis de Ciclina D1 e PCNA (antígeno nuclear de proliferação celular) em células tumorais (RAY et al., 2007). A leptina aumenta a expressão de STAT-3 (sinalizador de transcrição e tradução - 3) (HU et al, 2002; DIEUDONNE et al, 2002; GAROFALO et al., 2004; YIN et al., 2004 ISHIKAWA et al., 2004 e RAY et al., 2007), pERK (cinase sinalizadora e reguladora da fosforilação extracelular) e AP-1 (proteína ativadora 1). A ativação da via MAPK pela leptina (DIEUDONNE et al., 2002, WANG et al., 2006), esta última por vezes envolve, por sua vez, ativação conjunta de ER (receptor de estrógeno) pela mesma via. Evidências de progressão tumoral têm sido descritas em estudos que demonstraram relação entre angiogênese tumoral e expressão de leptina (JARDÉ et al., 2011). Estas evidências foram reforçadas por Gonzalez et al. (2009), pois ao utilizarem substâncias antagonistas à leptina, observaram redução na expressão de VEGF em mulheres.

Em resumo, desregulações metabólicas por conta da obesidade, em especial a hiperleptinemia, favorecem carcinogênese mamária por inibição de vias de sinalização pró-apoptóticas e ativação das vias de proliferação o que pode ser observado na figura 6.

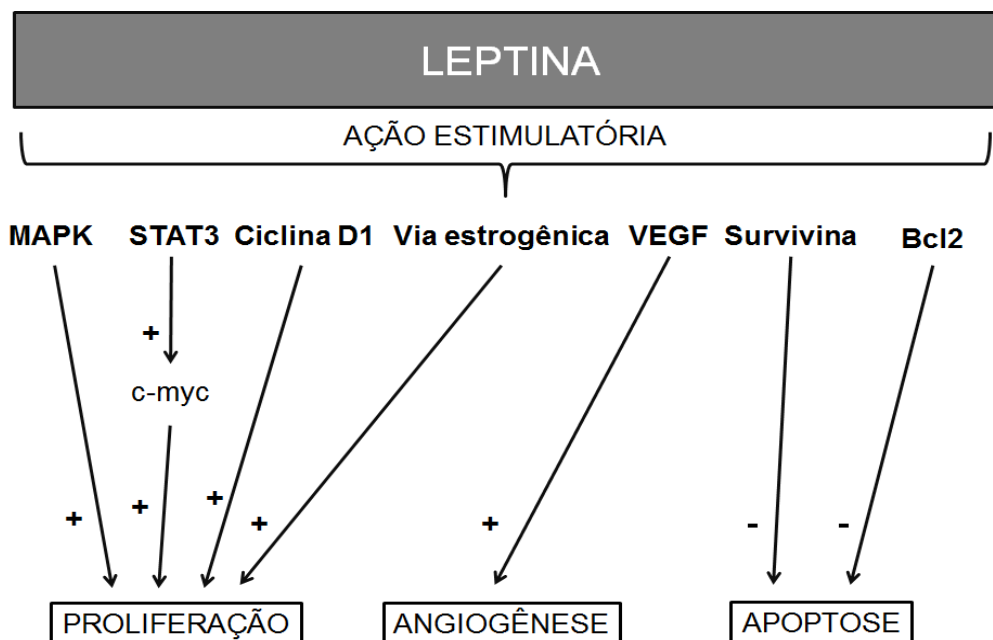


Figura 6: Vias de sinalização estimulada pela leptina em células tumorais mamárias. (adaptado de Jardé et al., 2011).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Avaliar correlação entre obesidade, dislipidemias, hiperglicemia e hiperleptinemia em cadelas obesas, assim como determinar se há relação entre obesidade, tumor de mama e níveis leptinêmicos neste grupo de animais.

3.2. Objetivos Específicos

- Mensurar os níveis de triglicerídeos circulantes e correlacionar com a obesidade;
- Mensurar os níveis de colesterol circulantes e correlacionar com a obesidade;
- Mensurar níveis de leptina circulante e correlacionar com a obesidade;
- Mensurar níveis de leptina circulante e correlacionar com tumor de mama;
- Mensurar glicose e correlacionar com a obesidade;
- Mensurar frutossamina e correlacionar com a obesidade.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os procedimentos aplicados neste estudo foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA) do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília (UnBDOC nº 15584/2012).

4.1. Análise estatística

Para análise dos dados optou-se por utilização do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis devido à violação de pressupostos para uso de teste paramétrico no que tange a não homogeneidade da variância. Valores de $p < 0,05$ foram considerados como significantes (ZAR, 1999). Os resultados foram obtidos utilizando-se o programa SPSS versão 20.0 e xL Stat (estatística multivariada para Excel).

Os resultados de todas as variáveis foram ilustrados em gráficos não paramétricos boxplots sendo uma maneira conveniente de descrever graficamente os grupos de dados numéricos através de seus quartis. Para interpretação do gráfico, a caixa do gráfico indicam 50% das amostras. As linhas que se estendem verticalmente às caixas, denominadas de “whiskers”, indicando variabilidade fora os quartis superiores e inferiores. Cada “whiskers” indica 25% da amostra. Pontos individuais acima ou abaixo dos “whiskers” são denominados outliers e indicam valores com grande afastamento dos demais. Os espaçamentos entre as diferentes partes da caixa de ajuda indicar o grau de dispersão e assimetria nos dados, e identificar os valores anormais. A linha central da caixa indica a mediana da amostra, valor útil quando se tem desvio padrão elevado.

4.2. Animais

Neste estudo foram utilizados 60 caninos, fêmeas, divididos em quatro grupos, sendo dois grupos controles (G1 e G2) e dois grupos experimentais (G3 e

G4). O grupo G1 era composto por cães com escore de condição corporal ideal sem tumor mamário, o grupo G2 com cães com escore de condição corporal ideal com tumor mamário, o grupo G3 com cães acima do peso sem tumor mamário e o grupo G4 com cães acima do peso (escore corporal > 6) com tumor mamário. Optou-se por caninos com idade acima de 6 anos, com ou sem raça definida, atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Brasília (UnB), Hospital Veterinário da União Pioneira de Integração Social (UPIS) e Clínicas Veterinárias particulares do Distrito Federal.

Os seguintes critérios foram observados na escolha dos animais para comporem este estudo: a) diagnóstico de neoplasia mamária b) diagnóstico de obesidade, c) ausência de doença grave concomitante e d) animais com temperamento dócil que permitam ser manipulados.

Antes de qualquer manejo com os animais, a pesquisa foi explicada ao proprietário para que este autorizasse a participação do seu animal no projeto através da leitura e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido, constante nos apêndices 3 e 4.

Todos os animais passaram por anamnese nutricional, medições biométricas e punção venosa. Informações acerca do tumor mamário como histórico do animal com dados referentes aos sinais clínicos, data de início e evolução das lesões, comportamento reprodutivo (ciclo estral e gestações), caracterização macroscópica das lesões neoplásicas, como mobilidade, coloração da lesão, infecção, envolvimento muscular e dor local foram retiradas de fichas clínicas previamente preenchidas pelo veterinário primário, aquele que atendeu o animal inicialmente diagnosticando o tumor e indicando tratamento cirúrgico. Para anamnese nutricional, uma ficha clínica constante nos apêndices 1 e 2 foi utilizada onde também eram inseridas as informações relativas a neoplasia mamária.

4.3. Caracterização do escore corporal

Antes do uso de qualquer técnica, a avaliação física foi realizada para verificar se havia edema ou ascite, como proposto por Case et al. (1998). Três métodos para a determinação do escore corporal foram utilizados, como escore de condição corporal (ECC), índice de massa corporal canino (IMCC) e medição morfométrica (MM).

O ECC foi proposto por LAFLAMME (1997), com a escala 1-9, pois, segundo BURKHOLDER et al (2000) permite caracterização mais precisa da condição corporal do animal. Portanto, os animais selecionados para compor os grupos G1 e G2 apresentaram ECC normal 4/5 e os grupos G3 e G4 obtiveram ECC ≥ 6 .

Para IMCC foram verificados o peso e a estatura do animal. Ao aplicar o IMCC, tanto o grupo G1 como o G2 apresentaram índices entre 11,8 e 15 indicando animais com peso ideal. Já os grupos G3 e G4 apresentaram índices $\geq 15,1$ o que representa animais acima do peso ideal.

Para o exame de composição corporal, foi realizada medição morfométricas proposta por Burkholder (2000). Nessa medição tanto o grupo G1 como no G2 a porcentagem de gordura corporal (%GC) ficou entre 16 e 25 % o que indica, segundo Burkholder et al. (2000) animais com peso ideal. Nos grupos G3 e G4, a porcentagem de gordura corporal (%GC) ficou acima de 26% o que indica, segundo o mesmo autor, animais acima do peso ideal. O uso do método de avaliação da condição corporal a partir de morfometria nos fornece valores de porcentagem de gordura corporal e a sua precisão estão em uma faixa de variação de ± 2 a 4% de gordura corpórea (BURKHOLDER & TOLL, 2000).

Dados referentes à idade, ECC, MM, IMCC e porcentagem de gordura corporal dos grupos G1, G2, G3 e G4, podem ser visualizados nas tabelas 7 e 8, constantes nos apêndices 5 e 6, respectivamente. Para confirmação do escore de condição corporal e divisão dos animais nos respectivos grupos, os métodos de avaliação da condição corpórea, IMCC e %GC, foram submetidos à análise estatística. Os valores de IMCC entre os grupos G1 e G2 e entre G3 e G4 não diferiram entre si ($p \geq 0,05$) após a aplicação do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. Ao analisar os valores

de IMCC entre G1 e G2 e G3 e G4, os valores diferiram entre si ($p \leq 0,05$), onde os grupos compostos por cadelas obesas (G3 e G4) possuíam IMCC maior do que as cadelas que compunham os grupos com escore de condição corporal normal (G1 e G2).

A porcentagem de gordura corporal entre os grupos G1 e G2, após a aplicação do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, não diferiu estatisticamente ($p \geq 0,05$). A média obtida para a variável porcentagem de gordura corporal entre os grupos G1 e G2 se encontram abaixo de 25%, o que, segundo Burkholder et al. (2000), caracterizam animais com peso corporal normal. Ao comparar a porcentagem de gordura corporal dos grupos G3 e G4, os valores não diferiram entre si ($p \geq 0,05$), o que era esperado, pois os dois grupos são compostos por cadelas obesas. As diferenças de porcentagem de gordura corporal entre os grupos com escore de condição corporal normal e os grupos acima do peso diferiram entre si ($p \leq 0,05$) sendo maior nos grupos G3 e G4 em comparação aos grupos G1 e G2.

4.4. Coleta das amostras

Para coleta de sangue os animais foram colocados em mesa própria e contidos adequadamente por pessoal habilitado para que a punção fosse bem sucedida com o mínimo de estresse.

A postura do paciente no momento da colheita de sangue foi padronizada para evitar alterações significativas nos resultados. Pressões murais e uso de torniquetes prolongados no momento da colheita produzem hemoconcentração, por este motivo a punção, após aplicação de pressão venosa foi feita em menos de 1 minuto. Quando isto não era possível por algum motivo, a punção foi realizada após a retirada da pressão mural ou torniquete.

Para os grupos G2 e G4, a coleta das amostras foi feita minutos antes do procedimento cirúrgico, momento em que os animais se encontravam em jejum alimentar. Para os grupos G1 e G3, o jejum de 12 horas foi previamente solicitado para posterior coleta.

Foi realizada punção jugular de 10 mL de sangue com auxílio de agulha para coleta à vácuo. Do total coletado, 8 mL foram divididos em dois tubos sem anticoagulante e 2 mL adicionados em tubo com fluoreto + anticoagulante.

Após a coleta, os tubos permaneceram em temperatura ambiente por cerca de 30 minutos e em seguida submetidos à centrifugação para obtenção do soro e plasma que foram armazenados em microtubos de polipropileno devidamente identificados. Em seguida, realizou-se as mensurações bioquímicas, o restante das amostras do tubo sem anticoagulante foram congeladas à -20° C para posterior mensuração dos níveis séricos de leptina. O sobressalente dos tubos com fluoreto com anticoagulante também foram congeladas à -20° C.

Os reagentes fornecidos nos kits bioquímicos foram armazenados conforme recomendações do fabricante, entre 2 e 8°C e permaneceram fora da geladeira apenas o tempo suficiente para se obter o volume a ser utilizado.

4.5. Mensuração das amostras

Para as análises bioquímicas, foi utilizado fotômetro capaz de medir absorvância entre 510 e 550nm após calibração para cada um dos testes. Somente a leptina foi mensurada utilizando-se o método ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay).

4.5.1. Colesterol e triglicérides

Para mensuração de colesterol e triglicérides, o sistema COLESTEROL Liquiform LABTEST e TRIGLICÉRIDES Liquiform LABTEST foram utilizados, respectivamente. Estes são sistemas enzimáticos para determinação de colesterol e triglicérides por reação de ponto final em amostras de soro ou plasma.

Cada vez que as análises bioquímicas eram realizadas, um microtubos de polipropileno era preparado com 1,0 mL de reagente, representando o branco da análise (controle negativo)

O reagente para mensuração de colesterol contém tampão 50 mmol/L; pH 7,0; fenol 24 mmol/L; colato de sódio 500 μ mol/L; azida sódica 15 mmol/L; 4-aminoantipirina 500 μ mol/L; colesterol esterase \geq 250 U/L; colesterol oxidase \geq 250 U/L e peroxidase \geq 1000 U/L.

O reagente para mensuração de triglicérides contém tampão 50 mmol/L; íons magnésio 4 mmol/L; 4-clorofenol 2,70 mmol/L; 4-aminoantipirina 300 μ mol/L; ATP 1,8 mmol/L; lipoproteína lipase \geq 1400U/L; glicerolquinase \geq 1000 U/L; glicerolfosfato oxidase \geq 1500 U/L; peroxidase \geq 900 U/L e azida sódica 0,095%.

Para cada um dos analitos, utilizou-se um microtubos de polipropileno para mensuração de colesterol e um para mensuração de triglicérides, devidamente identificados. Nestes microtubos de polipropileno testes, era adicionado 0,01 mL de amostra + 1,0 mL de reagente como ilustrado na tabela 2.

Após homogeneizar as amostras, essas eram incubadas em banho maria a 37 °C durante 10 minutos. Para este procedimento, o nível de água no banho se manteve superior ao nível de reagentes nos microtubos de polipropileno. Passados 10 minutos, as amostras eram levadas para análise por espectrofotometria.

4.5.2. Glicose

Para mensuração de glicose, o sistema GLICOSE PAP Liquiform LABTEST foi utilizado.

A coleta de sangue foi feita em tubos contendo fluoreto com objetivo de evitar a glicólise caso a amostra não pudesse ser processada imediatamente após a punção, pois, nestes tubos, a glicose permanece estável por 3 dias entre 2 e 8° C.

A preparação dos microtubos de polipropileno segue o mesmo procedimento aplicado para a mensuração de triglicérides e colesterol, incluindo quantidade de reagente e amostra. No período de incubação, os microtubos de polipropileno ficavam durante 15 minutos à 37°C e as amostras eram lidas por espectrofotometria.

No caso da mensuração de glicose sérica, o reagente utilizado contém tampão 50 mmol/L; pH 7,5; fenol \geq 1 mmol/L; glicose oxidase \geq 11000 U/L; peroxidase \geq 700 U/L; 4-aminoantipirina \geq 290 μ mol/L; azida sódica 0,05%; estabilizadores e surfactantes.

4.5.3. Frutosamina

Para mensuração de frutosamina, o sistema FRUTOSAMINA LABTEST foi utilizado. Este sistema serve para determinar a frutosamina por método cinético por tempo fixo em amostras de soro.

O reagente de trabalho é uma mistura do reagente 2 com reagente 1 homogeneizados por inversão. O reagente 1 contém tampão 83 mmol/L; pH 7,3; azul de nitrotetrazólio (NBT) 967 μ mol/L; uricase \geq 5000 U/L; azida sódica 14,6 mmol/L; surfactantes e estabilizadores. O reagente 2 contém tampão 625 mmol/L; pH 10,4 e azida sódica 14,6 mmol/L. Após a preparação do reagente de trabalho, este era devidamente identificado com a data de preparação para melhor controle da data de validade do mesmo, podendo ser utilizado por 30 dias após a preparação se armazenado entre 2 - 8°C.

A mensuração de frutosamina era a última a ser realizada, pois as amostras tinham que ser lidas imediatamente após a incubação em banho maria à 37°C durante 10 minutos. Os valores eram fornecidos pelo fotômetro após 6 minutos de leitura em μ mol/L.

4.5.4. Leptina

A leptina foi dosada em amostras de soro por ELISA, utilizando o kit Canine Leptin ELISA 96-Well Plate (EMD Millipore), utilizado para quantificação não radioativa de leptina canina suficiente para mensuração de 38 amostras em duplicata, usado recentemente para mensuração de leptina em soro de cães por Velde et al (2012). A atividade enzimática é medida por espectrofotometria através da absorbância entre 450 – 590 nm. Como ao todo, 60 amostras foram coletadas, dois kits foram utilizados para mensuração dos níveis séricos de leptina.

Estas análises foram conduzidas no Instituto de Ciências Biológicas junto ao Departamento de Biologia Celular, Campus Darcy Ribeiro da Universidade de Brasília, com auxílio da professora Cecilia Beatriz Fiuza Favali.

Antes do início do procedimento, o padrão para leptina canina e os controles de qualidade foram preparados.

4.5.4.1. Preparação do padrão leptina canina

O padrão foi reconstituído em 500 µL de água destilada para se obter concentração de 55 ng/mL. Após a adição de água destilada ao frasco, este foi invertido e misturado lentamente, seguindo para um descanso de 5 minutos. Passado o tempo de descanso, o frasco foi levado ao agitador Vortex para homogeneizar o produto.

Na sequência, seis microtubos de polipropileno receberam etiquetas com as numerações tubo 1, tubo 2, tubo 3, tubo 4, tubo 5 e tubo 6. Posteriormente 250 µL de tampão de ensaio foram adicionados a cada um dos seis tubos. Em seguida, 250 µL do padrão já reconstituído foi adicionado ao tubo 1. Após homogeneizar o tubo 1, 250 µL foram transferidos para o tubo 2 dando início às diluições em série até o tubo 5 para obtenção de uma concentração final de 0,859375 ng/mL. A etapa da diluição em série assim como as concentrações obtidas em cada um dos frascos está descrito na tabela 3.

Tabela 2: Etapa de diluição em série para preparação do padrão e concentrações obtidas.

| Número do tubo | Volume do tampão de ensaio adicionado | Volume de padrão adicionado | Concentração obtida (ng/mL) |
|----------------|---------------------------------------|--------------------------------|-----------------------------|
| Tubo 1 | 250 µL | 250 µL de padrão reconstituído | 27,5 (X / 2) |
| Tubo 2 | 250 µL | 250 µL do tubo 1 | 13,75 (X / 4) |
| Tubo 3 | 250 µL | 250 µL do tubo 2 | 6,875 (X / 8) |
| Tubo 4 | 250 µL | 250 µL do tubo 3 | 3,4375 (X / 16) |
| Tubo 5 | 250 µL | 250 µL do tubo 4 | 1,71875 (X / 32) |
| Tubo 6 | 250 µL | 250 µL do tubo 5 | 0,859375 (X / 64) |

4.5.4.2. *Preparação dos controles de qualidade 1 e 2*

Para preparação dos controles de qualidade 1 (QC1) e 2 (QC2), 500 µL de água destilada foi adicionada para cada um dos frascos para reconstituição. Após a adição de água destilada ao frasco, este foi invertido e misturado lentamente, seguindo para um descanso de 5 minutos. Passado o tempo de descanso, o frasco foi levado ao agitador Vortex para homogeneização.

4.5.4.3. *Procedimentos operacionais para o ELISA I*

Para início do procedimento, todos os reagentes foram colocados à temperatura ambiente antes da configurar o ensaio. Os seguintes passos foram seguidos;

- **Passo 1:** Cada um dos dois tubos de solução de lavagem contendo 50 mL foi diluído na proporção 1:10 com água destilada obtendo, ao final, uma solução com 900 mL.
- **Passo 2:** Lavagem da placa de ELISA com 300 µL de solução de lavagem. Este procedimento foi repetido por mais 2 vezes totalizando 3 lavagens iniciais.
- **Passo 3:** 100 µL de tampão de ensaio foram adicionados aos poços A1 e B1, representando o branco do ensaio. O restante dos poços receberam 80 µL da mesma solução.
- **Passo 4:** Adição de 20 µL de X / 64 aos poços C1 e D1, 20 µL de X / 32 aos poços E1 e F1, 20 µL de X / 16 aos poços G1 e H1, 20 µL de X / 08 aos poços A2 e B2, 20 µL de X / 04 aos poços D2 e E2, 20 µL de X/02 aos poços E2 e F2 e 20 µL de X aos poços G2 e H2, 20 µL de QC1 aos poços A3 e B3 e 20 µL de QC2 aos poços C3 e D3. Para cada um dos poços restantes, 20 µL de amostra (A) foi adicionado. A montagem da placa do primeiro ELISA (ELISA 1) está ilustrada na figura 5.

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|--------|------|-----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| A | Branco | X/08 | QC1 | A3 | A7 | A11 | A15 | A19 | A23 | A27 | A31 | A35 |
| B | Branco | X/08 | QC1 | A3 | A7 | A11 | A15 | A19 | A23 | A27 | A31 | A35 |
| C | X/64 | X/04 | QC2 | A4 | A8 | A12 | A16 | A20 | A24 | A28 | A32 | A36 |
| D | X/64 | X/04 | QC2 | A4 | A8 | A12 | A16 | A20 | A24 | A28 | A32 | A36 |
| E | X/32 | X/02 | A1 | A5 | A9 | A13 | A17 | A21 | A25 | A29 | A33 | A37 |
| F | X/32 | X/02 | A1 | A5 | A9 | A13 | A17 | A21 | A25 | A29 | A33 | A37 |
| G | X/16 | X | A2 | A6 | A10 | A14 | A18 | A22 | A26 | A30 | A34 | A38 |
| H | X/16 | X | A2 | A6 | A10 | A14 | A18 | A22 | A26 | A30 | A34 | A38 |

Figura 7: Montagem da placa de ELISA 1 com ordem de adição do padrão, controle de qualidade e amostras.

- **Passo 5:** A placa foi selada e incubada por 2 horas à temperatura ambiente em plataforma agitadora.
- **Passo 6:** Lavagem da placa 3 vezes após incubação com 300 µL de solução de lavagem.
- **Passo 7:** Adição de 100 µL da solução para detecção de anticorpos em cada um dos poços, desde A1 até H12.
- **Passo 8:** Selagem da placa e incubação em temperatura ambiente por mais 1 hora em plataforma agitadora.
- **Passo 9:** Lavagem da placa 3 vezes após incubação com 300 µL de solução de lavagem
- **Passo 10:** Adição 100 µL da solução de enzima em cada um dos poços, desde A1 até H12.
- **Passo 12:** Selagem da placa e incubação em temperatura ambiente por 30 minutos em plataforma agitadora.
- **Passo 13:** Lavagem da placa 6 vezes após incubação com 300 µL de solução de lavagem
- **Passo 14:** Adição de 100 µL de substrato em cada um dos poços, desde A1 até H12.
- **Passo 15:** Selagem da placa e incubação em temperatura ambiente por 10 minutos em plataforma agitadora.
- **Passo 16:** Adição de 100 µL da solução de parada em cada um dos poços, desde A1 até H12.
- **Passo 17:** Leitura da placa em absorvância 450 – 590 nm.

A placa, após colocação da solução de parada pode ser visualizada na figura

6.

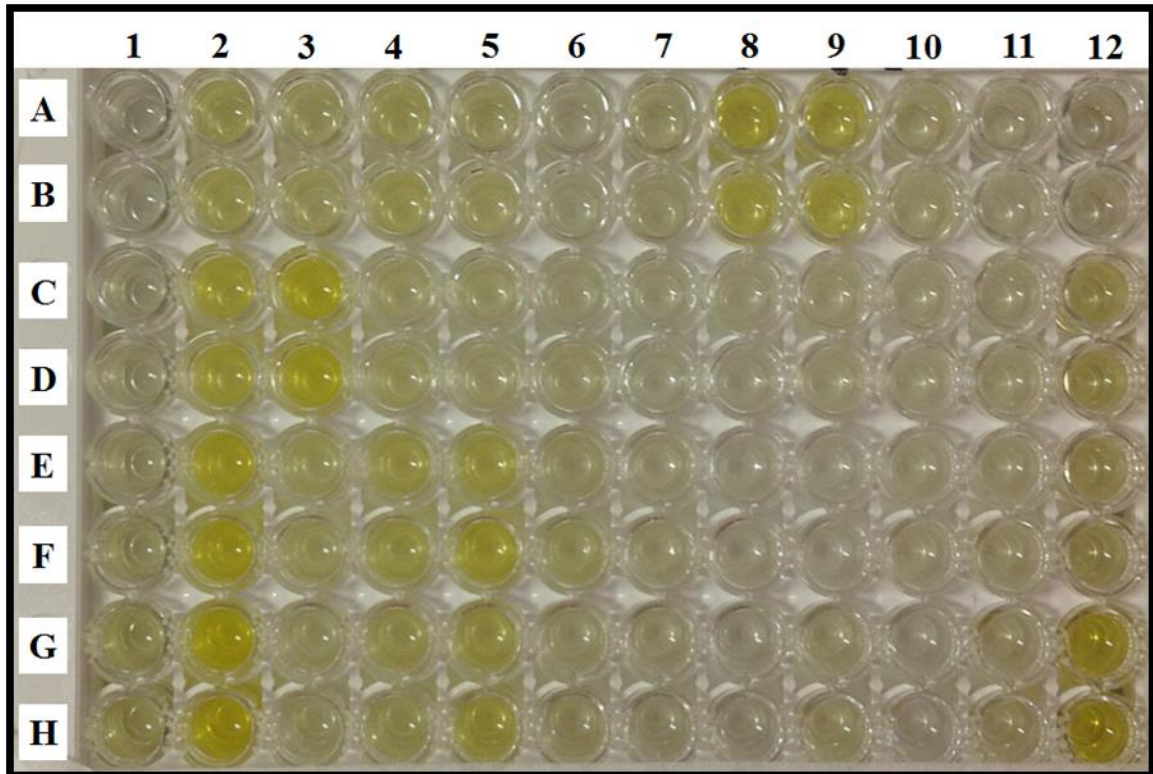


Figura 8: Placa de ELISA 1, após a adição da solução de parada.

4.5.4.4. Procedimentos operacionais para o ELISA II

Para realização do segundo ELISA, devido alteração da ordem de montagem das placas para facilitar a leitura posteriormente, os passos 3 e 4 foram alterados e estão descritos abaixo.

- **Passo 3:** 100 μL de tampão de ensaio foram adicionados aos poços A1 e A2, representando o branco do ensaio. O restante dos poços receberam 80 μL da mesma solução.
- **Passo 4:** Adição de 20 μL de X / 64 aos poços B1 e B2, 20 μL de X / 32 aos poços C1 e C2, 20 μL de X / 16 aos poços D1 e D2, 20 μL de X / 08 aos poços E1 e E2, 20 μL de X / 04 aos poços F1 e F2, 20 μL de X/02 aos poços G1 e G2, 20 μL de X aos poços H1 e H2, 20 μL de QC1 aos poços A3 e A4 e 20 μL de QC2 aos poços B3 e B3. Para cada um dos poços restantes, 20 μL

de amostra (A) foi adicionado. A montagem da placa do segundo ELISA está ilustrada na figura 7.

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|--------|--------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| A | Branco | Branco | QC1 | QC1 | A7 | A7 | A15 | A15 | A23 | A23 | A31 | A31 |
| B | X/64 | X/64 | QC2 | QC2 | A8 | A8 | A16 | A16 | A24 | A24 | A32 | A32 |
| C | X/32 | X/32 | A1 | A1 | A9 | A9 | A17 | A17 | A25 | A25 | A33 | A33 |
| D | X/16 | X/16 | A2 | A2 | A10 | A10 | A18 | A18 | A26 | A26 | A34 | A34 |
| E | X/08 | X/08 | A3 | A3 | A11 | A11 | A19 | A19 | A27 | A27 | A35 | A35 |
| F | X/04 | X/04 | A4 | A4 | A12 | A12 | A20 | A20 | A28 | A28 | A36 | A36 |
| G | X/02 | X/02 | A5 | A5 | A13 | A13 | A21 | A21 | A29 | A29 | A37 | A37 |
| H | X | X | A6 | A6 | A14 | A14 | A22 | A22 | A30 | A30 | A38 | A38 |

Figura 9: Montagem da placa de ELISA 2 com ordem de adição do padrão, controle de qualidade e amostras.

A figura 8 demonstra a placa do segundo ELISA após adição da solução de parada.

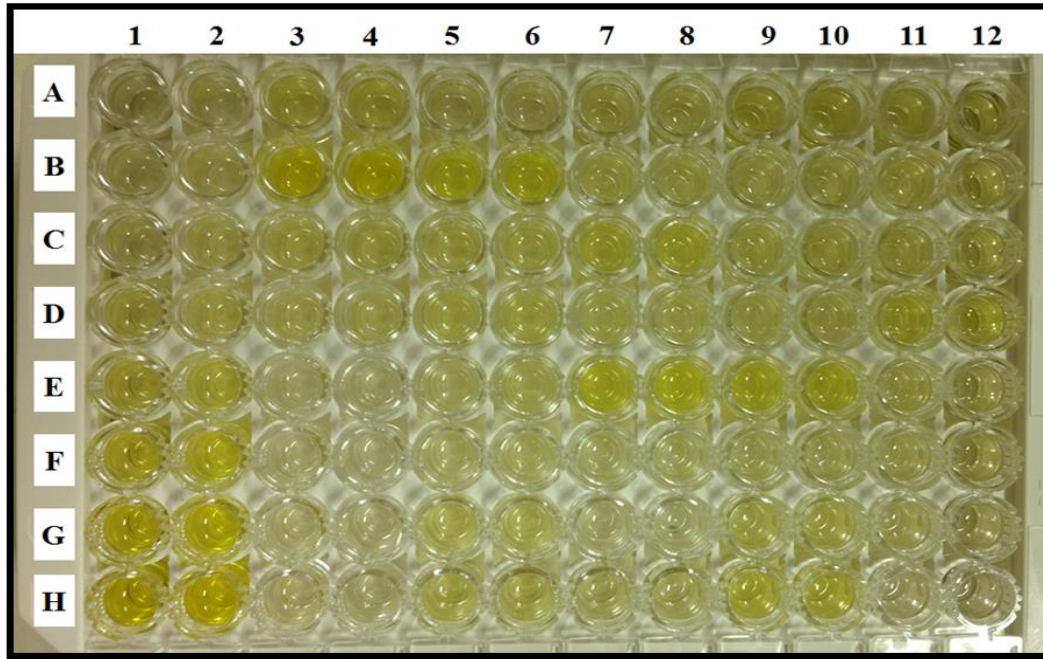


Figura 10: Placa de ELISA 2, após a adição da solução de parada.

Durante todo o procedimento, a placa de ELISA foi monitorada a fim de evitar formação de bolhas no fundo do poço o que poderia interferir na leitura da atividade enzimática medida por espectrofotometria através de absorvância entre 450 e 590 nm. Outro procedimento para otimizar o ensaio foi descartar amostras com hemólise ou lipemia.

5. RESULTADOS

5.1. Triglicerídeos e colesterol.

Os níveis séricos por animal de triglicerídeo e colesterol, dos grupos G1, G2, G3 e G4 podem ser visualizados na tabela 6 disponível no apêndice 7.

Os valores de triglicerídeos obtidos em G1 e G2 estavam dentro dos níveis normais para a espécie, cuja variação, segundo Zicker et al., (2000) é de 20 a 140 mg.dL⁻¹. Nos grupos G3 e G4, todos os valores de triglicerídeos obtidos estão fora da faixa de variação ideal, demonstrando hipertrigliceridemia em 100% das cadelas analisadas com escore de condição corporal acima do peso.

Pelo teste de Kruskal-Wallis, a variável triglicerídeo dos grupos G1 e G2, assim como dos grupos G3 e G4 não apresentaram diferenças estatisticamente significante (significância assintótica $\geq 0,05$). Os valores entre os grupos com escore de condição corporal ideal (G1 e G2) e os grupos acima do peso (G3 e G4), os valores de triglicérides apresentaram diferenças estatisticamente significantes (significância assintótica $\leq 0,05$). As médias para a variável triglicerídeo estão ilustradas em gráficos boxplots na figura 11.

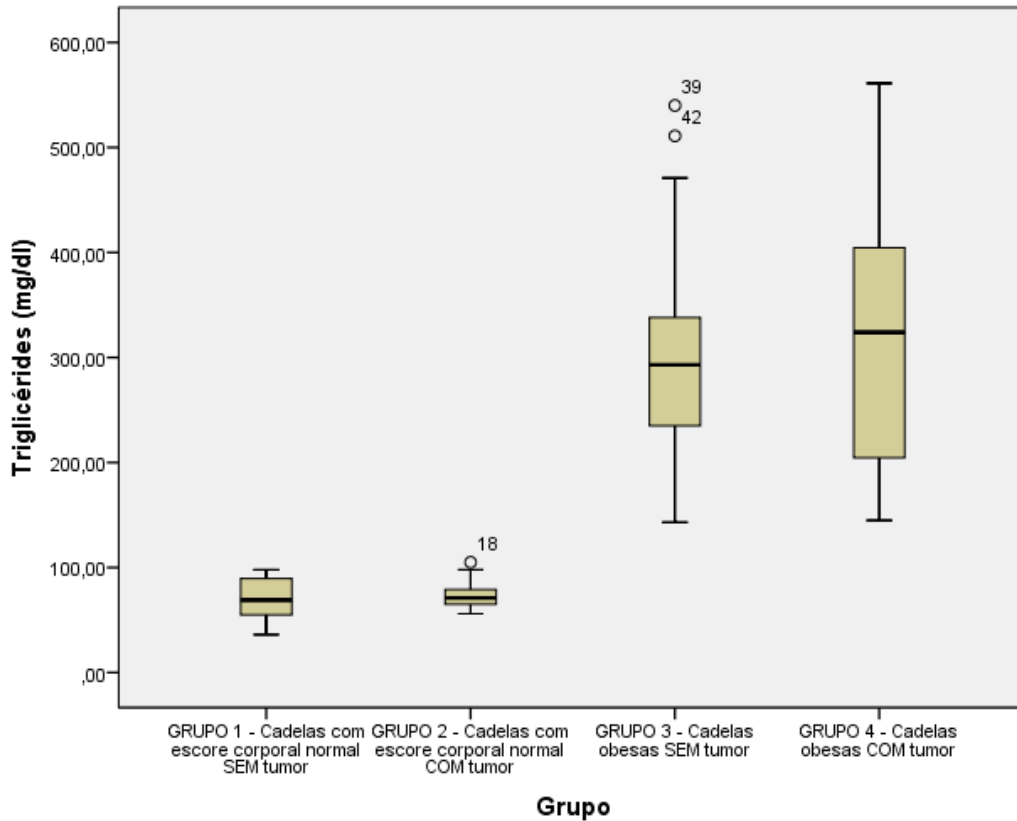


Figura 11: Resultado médio dos níveis séricos de triglicérides por grupo.

De forma semelhante, os valores de colesterol as cadelas do grupo G1 e G2, estavam dentro da faixa de variação normal proposta por Kaneko (1997), que vai de 130 a 270 mg.dL⁻¹. No grupo G3, 93,3% (n=14/15) das cadelas apresentaram hipercolesterolemia e apenas uma cadela, 6,66 % (n=1/15) do total, apresentou colesterol sérico dentro da normalidade. Ao analisar o grupo G4, 73,3% (n=11/15) das cadelas apresentaram hipercolesterolemia e 26,6% (n=4/15) apresentaram níveis de colesterol dentro da normalidade.

Como pode ser visualizado na figura 12, de acordo com o teste de Kruskal-Wallis, não houve diferença significativa nos níveis de colesterol entre os grupos G1 e G2 assim como entre os grupos G3 e G4 (significância assintótica $\geq 0,05$). Entretanto, ao fazer a mesma análise agrupando os animais com escore de condição corporal ideal (G1 e G2) com aqueles acima do peso (G3 e G4), observou-

se diferença estatisticamente significativa (significância assintótica $\leq 0,05$) nos valores de colesterol.

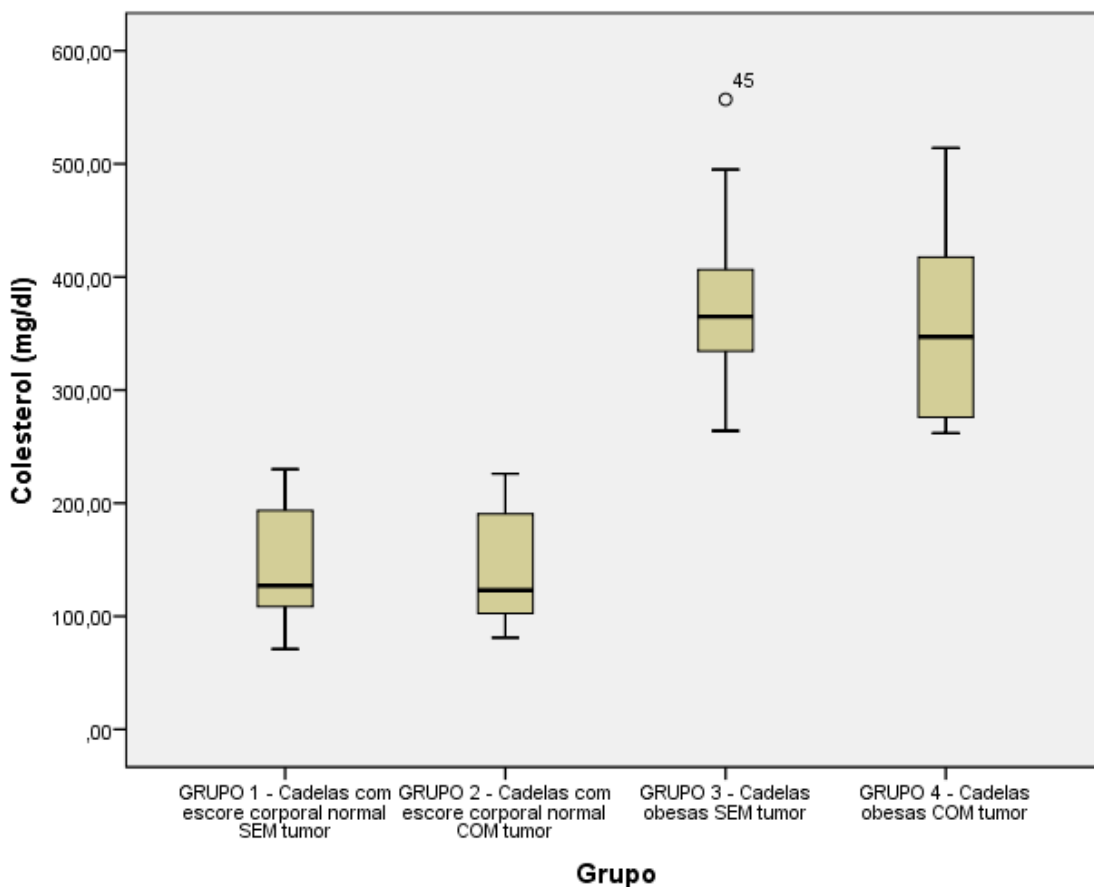


Figura 12: Resultado médio dos níveis séricos de colesterol por grupo.

5.2. Glicose e frutamina.

Os resultados séricos individuais de glicose e frutamina, dos grupos G1, G2, G3 e G4 podem ser visualizados na tabela 5 disponível no apêndice 7.

Apesar de 3 cadelas (3/15) do grupo G1 apresentarem glicose sérica próxima ao limite máximo, de uma maneira geral os valores obtidos nos grupos com escore corporal ideal, G1 e G2, encontraram-se dentro da normalidade utilizando a variação glicêmica proposta por Brobst (1997) de 65 a 110 mg.dL⁻¹. No Grupo G3, 93,3 % (14/15) das cadelas apresentaram valores séricos de glicose elevados, com apenas

6,66% (n=1/15) apresentando valor dentro da normalidade, apesar de estar no limite máximo. No grupo G4 as mesmas porcentagens foram encontradas, ou seja, 93,3% das cadelas apresentaram glicose elevada e apenas 6,66% apresentaram glicemia dentro da normalidade. Os valores de glicose entre os grupos G1 e G2 não diferiram entre si (significância assintótica $\geq 0,05$) pelo teste de Kruskal-Wallis, assim como os valores entre os grupos G3 e G4. Entretanto, ao fazer a mesma análise agrupando os animais com escore de condição corporal ideal (G1 e G2) com aqueles acima do peso (G3 e G4), observou-se diferença estatisticamente significativa (significância assintótica $\leq 0,05$) nos valores de glicose.

As médias dos níveis séricos de glicose estão ilustradas em gráficos boxplots (Fig. 13).

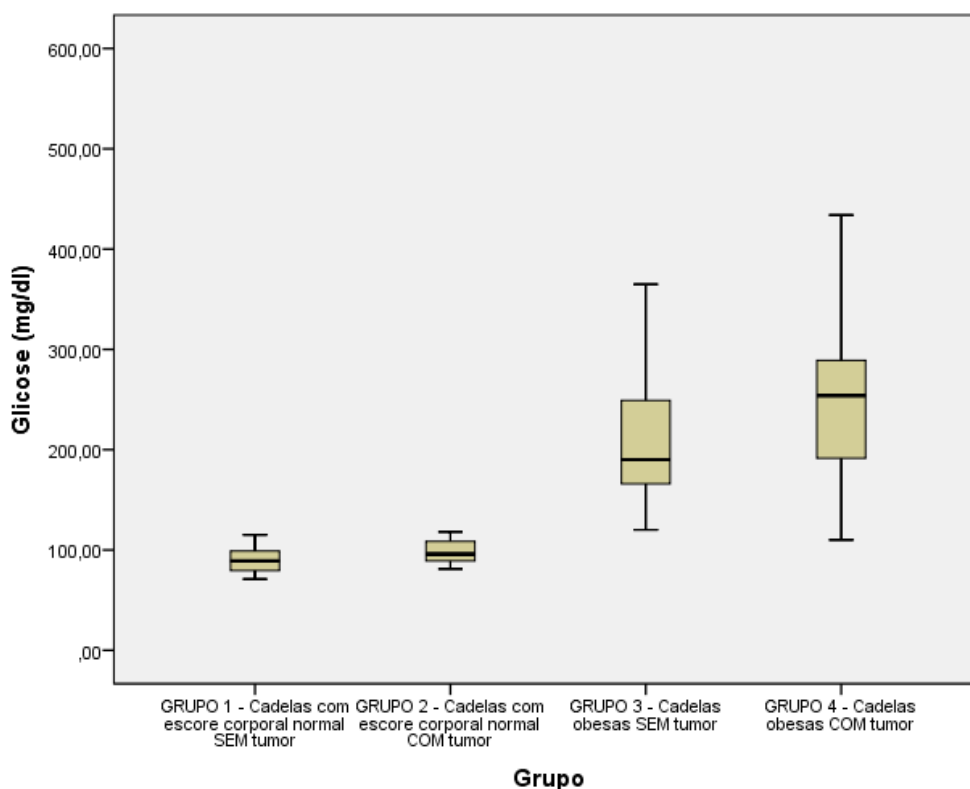


Figura 13: Resultados médios dos níveis séricos de glicose por grupo.

Os valores de frutossamina de 93,3% das cadelas do grupo G1 apresentaram-se dentro da normalidade, utilizando a faixa de variação proposta por Reusch et al.

(2001), que vai de 207 a 340 $\mu\text{mol/L}$ com apenas uma cadela, 6,66% (1/15), apresentando valor superior a 340 $\mu\text{mol/L}$. No grupo G2, 73,3% (n=11/15) das cadelas apresentaram níveis de frutossamina dentro da normalidade e 26,6% (4/15) apresentaram níveis acima de 340 $\mu\text{mol/L}$, apesar de se encontrarem muito próximos a este valor.

No grupo G3, 60% do total (n=9/15), estavam com níveis séricos de frutossamina elevados e 40% (6/15) apresentaram níveis dentro da normalidade. No grupo G4, 80% (n=11/15) das cadelas apresentaram frutossamina elevada e 20% (3/15) estavam com níveis séricos normais. Os valores de frutossamina entre os grupos G1 e G2 não diferiram entre si (significância assintótica $\geq 0,05$) assim como os valores entre os grupos G3 e G4, porém houve diferença estatística entre os grupos de ECC ideal e de ECC elevado.

As médias dos níveis séricos de frutossamina estão ilustradas em gráficos boxplots na figura 14.

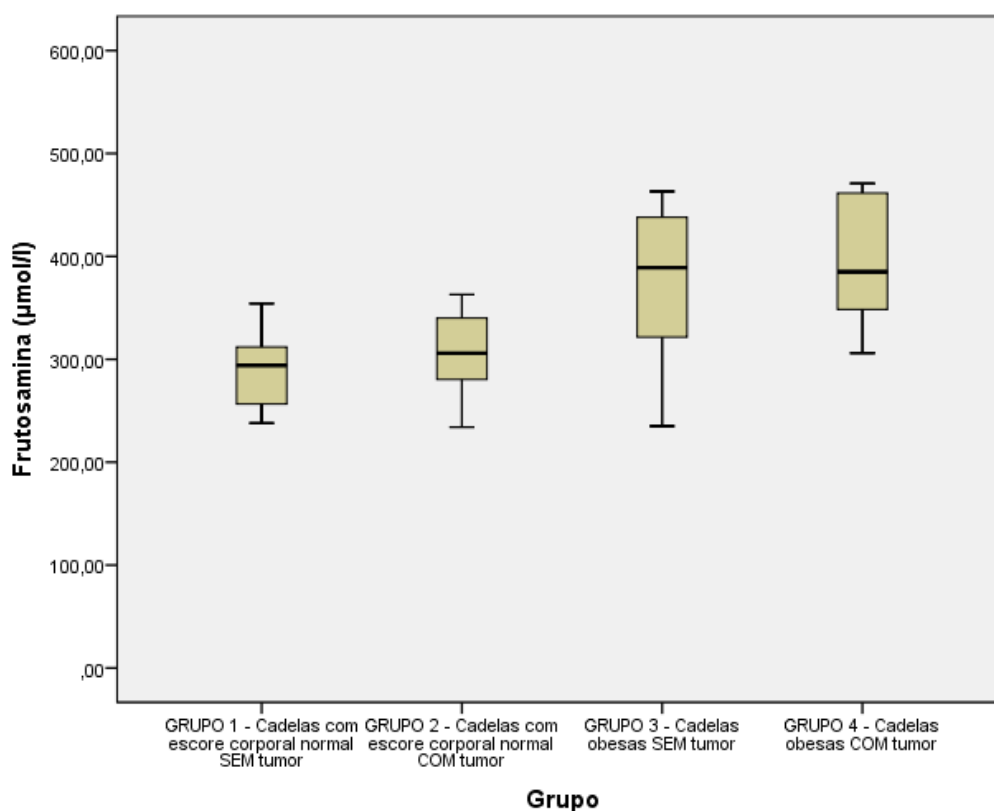


Figura 14: Resultados médios dos níveis séricos de frutossamina por grupo.

5.3. Leptina

Os valores individuais de leptina obtidos por método ELISA dos grupos G1 e G2, G3 e G4, estão descritos na tabela 9, respectivamente, disponível no apêndice 9. Na sequência, a figura 15 ilustra, através de gráfico boxplot, os valores médios de leptina obtidos, desagregado por grupo.

Se comparar os níveis de leptina entre os grupos com ECC normal e os grupos acima do peso, observamos diferença comprovada estatisticamente, onde os grupos acima do peso mostraram valores mais elevados. A média obtida nas cadelas com ECC normal (grupos G1 e G2) foi de 1,665 ng/dl, com valor mínimo em 0,9185 ng/dL e máximo de 2,395 nd/L. Enquanto que nas cadelas acima do peso (grupos G3 e G4), a média obtida foi 6,265 nd/dL, em torno de 3,5 vezes o valor obtido nas cadelas com escore normal. O valor mínimo encontrado nas cadelas acima do peso foi de 2,536 nd/dL e máximo de 14,143 nd/dL.

Não foi observada diferença estatisticamente significativa nos valores de leptina entre os grupos G1 e G2 (significância assintótica $\geq 0,05$). Entretanto, houve diferença significativa nos níveis de leptina das cadelas obesas com tumor (grupo G4) em comparação as cadelas obesas sem tumor (grupo G3). A média obtida no grupo G3 foi de 3,45 ng/mL, com valor mínimo de 2,536 ng/mL e máximo de 6,858 ng/mL. Ao analisar o grupo G4, a média obtida diferiu estatisticamente do grupo G3, sendo de quase 3 vezes a média do grupo G3 (9,08 ng/dL). O valor mínimo obtido no grupo G3 foi de 4,054 nd/dL e máximo de 14,143 nd/dL. Na comparação dos valores de leptina entre os grupos G3 e G4, verificou-se que os mesmos diferem entre si mostrando significância assintótica $\leq 0,05$. Houve também diferença significativa (significância assintótica $\leq 0,05$) entre os agrupamentos G1G2 e G3G4 (ECC ideal versus ECC acima do peso),

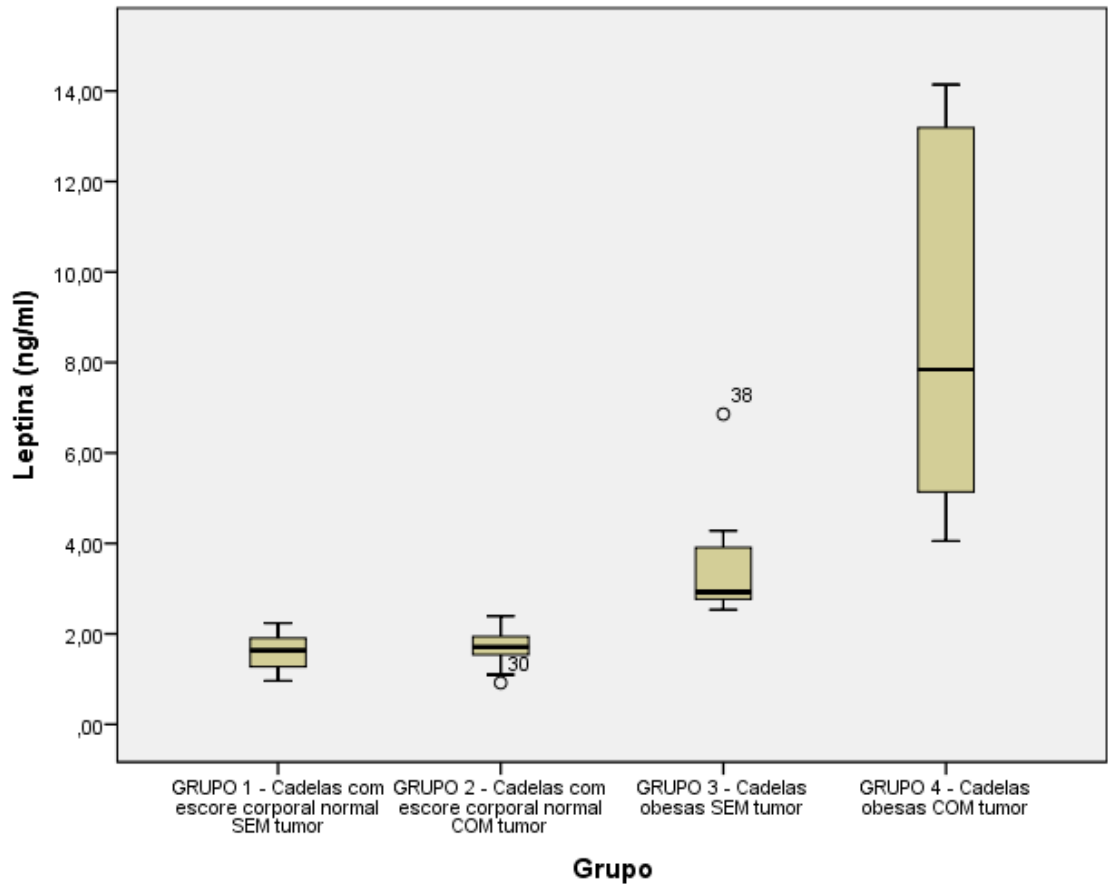


Figura 15: Resultado médio dos níveis séricos de leptina por grupo.

6. DISCUSSÃO

O presente estudo demonstrou relação direta entre obesidade e dislipidemia, hiperglicemia e hiperleptinemia em cadelas. Além disso, verificou-se associação entre obesidade e hiperleptinemia com neoplasias mamárias nesta espécie. Estes achados representam importante contribuição uma vez que existem escassos estudos associando os dados acima enumerados em cadelas. Este trabalho abre novas perspectivas para o entendimento de enfermidades cada vez mais frequentes, como a obesidade e os tumores de mama, na espécie canina. Além disso, os resultados aqui observados são semelhantes aos descritos na mulher, o que potencializa a aplicação dos conhecimentos gerados com estudos de obesidade e neoplasias mamárias em cadelas na espécie humana.

Semelhante ao que é amplamente conhecido para o homem, os achados de dislipidemia encontrados no presente estudo corroboram com Brunetto et al. (2011), Mori et al. (2011), Mazaki-Tovi et al. (2012) e Silva et al. (2012) onde hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia foram encontradas em cães obesos. Valores elevados de triglicerídeos e colesterol em cães aumentam as chances do desenvolvimento de várias enfermidades, como pancreatite, problemas oculares (JEUSETTE et al., 2005), aterosclerose, *diabetes mellitus* e hipotireoidismo (HESS et al., 2003). Desta forma é importante conhecer os níveis de lipídeos em cães obesos para o tratamento e prevenção inúmeras doenças.

Em 29 das 30 cadelas obesas (96,6%) estudadas foi observado hiperglicemia. Além disso, os níveis de glicose estavam muito acima dos valores de referência (média = 227,8 mg.dL⁻¹) concordando com os achados de Silva et al (2012), onde 84,61% dos cães (n=22/26) apresentaram hiperglicemia com média sérica de 173 mg.dL⁻¹. Sabe-se que outros fatores podem elevar a glicose sanguínea, em especial os níveis de cortisol circulantes durante a coleta das amostras em animais estressados, por exemplo. Entretanto, as cadelas não obesas (escore corporal normal) foram submetidas aos mesmos procedimentos realizados nas cadelas obesas e ainda assim apresentaram níveis dentro dos valores de referência tanto para frutossamina como para glicose. Além disso, segundo Veiga (2005), a

frutosamina não se modifica com as alterações induzidas por estresse. A frutosamina, elevada em 64% das cadelas acima do peso (n=11/30) foi avaliada neste estudo visto que a mesma fornece valores glicêmicos das últimas três semanas (KAWAMOTO et al, 1992; JENSEN & AAES, 1992). Para análise de distúrbio hormonais em cães obesos, Martin et al. (2006) mensurou o nível sérico de frutosamina de 31 cães com obesidade naturalmente adquirida, de diferentes raças, onde 27% deles estavam acima do peso. Em 64,5% (n=20/31) dos animais os níveis de frutosamina estavam elevados, considerando a mesma faixa de variação proposta por Reusch et al (2002), corroborando com os achados do presente estudo. Os resultados obtidos, tanto para glicose quanto para frutosamina, confirmam a hiperglicemia, que parece ser uma consequência do escore de condição corporal elevado, o que pode ser devido a uma resistência insulínica, que, segundo Kaijala et al (2000), eleva os níveis glicêmicos. Os resultados deste trabalho reforçam a idéia de que animais obesos tendem a ser hiperglicêmicos.

Vale salientar outros fatores que podem estar envolvidos na resistência insulínica. A elevação de insulina nos casos de obesidade pode levar a um aumento nas concentrações de IGF-I livre, em sua maior parte produzido pelo tecido hepático, devido à redução da expressão de proteínas de ligação (DOUYON, 2002). Martin et al (2006) analisou cães com obesidade espontânea e também encontrou elevação de IGF-I na população obesa em comparação aos não obesos. GAYET et al (2004) também avaliou cães com obesidade induzida por superalimentação onde esta resultou em elevação de IGF-I correlacionando-se positivamente com aumento de insulina. Outro fator importante na resistência insulínica é a presença de hipertrigliceridemia. Kawasumi et al (2012), diagnosticaram hiperlipidemia em nove (23,7%) de 38 cães que apresentavam conjuntamente resistência insulínica com hiperinsulinemia.

No presente estudo, observou-se correlação positiva entre peso vivo, escore corporal e medições biométricas com níveis leptinêmicos. Se comparar os níveis de leptina entre os grupos com escore normal e os grupos acima do peso, observa-se diferença estatística, onde os grupos acima do peso mostraram valores mais elevados. Desta forma pode-se inferir que as maiores quantidades de tecido adiposo nas cadelas do grupo G3 e G4 estão relacionadas aos níveis leptinêmicos mais

elevados corroborando com os achados de Jeusette et al (2005); Ishioka et al (2007); Nishi et al (2010); Verkest et al (2011) e Mazaki-Tovi et al (2012).

A produção de leptina também está relacionada diretamente com a ingestão de alimentos, onde níveis plasmáticos aumentam na fase pós-prandial (SANCHES, 2005). Este aumento de leptina pós-prandial é devido, além de outros fatores, a maior quantidade de glicose circulante adentrando os adipócitos (HAVEL, 2001). Como todos os animais alvos deste estudo estavam, no momento da punção venosa, em jejum prolongado, descarta-se a possibilidade dos maiores níveis de leptina encontrados nas cadelas obesas estarem relacionados alimentação pré-coleta.

Ao analisar outros fatores que interferem na produção de leptina, para todas as anamneses realizadas, informações acerca de ingestão de medicações eram obtidas, excluindo-se do estudo os animais que estivessem fazendo uso de fármacos ou suplementos que pudessem interferir de alguma maneira nas análises realizadas, em especial os glicocorticoides, pois estes possuem relação inversa com a produção de leptina (LICINIO et al, 1997 APUD SANCHES, 2005).

Sabe-se que animais obesos produzem adipocitocinas, em especial a leptina (GERMAN et al, 2010), que pode estar envolvida com a elevação da carcionogênese mamária (CLEARY et al, 2010; JARDÉ et al, 2011). Sendo assim, a leptina foi mensurada neste estudo para comparação dos valores séricos entre cadelas obesas e não obesas com e sem tumor mamário, tendo sido observado níveis estatisticamente maiores em cadelas obesas com neoplasia ($3,45 \pm 1,13$ ng/mL) em comparação com cadelas obesas sem tumor ($9,08 \pm 4,12$ ng/mL) (figura 17). Desta forma, pode-se sugerir, assim como observado na mulher (TESSITORE et al, 2000; TESSITORE et al, 2004; COSKUN, 2003; HARVIE, 2003; HU et al, 2003; ISHIKAWA, 2004; SAUTER et al, 2004; GAROFALO & SURMACZ, 2006; GAROFALO et al, 2006; CHEN, 2006; MIYOSHI et al, 2006; GONZALEZ, 2009; JARDÉ et al, 2009; JARDÉ et al, 2011; CLEARY, 2010; BENITEZ et al, 2012) que a leptina pode estar envolvida na carcinogênese mamária na cadela. Relatos na medicina veterinária estão em estudo preliminar conduzido por Ressel et al (2012), os autores investigaram leptina e seu receptor (ObR), através de imuno-

histoquímica, em tecidos mamários normais, hiperplásicos e neoplásicos. Os resultados revelaram que leptina e seu receptor ObR podem ser localizados nos tecidos analisados sendo que a expressão do receptor é elevada em tecidos hiperplásicos. Em cães, demonstrou-se perda de expressão de leptina e ObR em lesões neoplásicas avançadas. Ainda são necessárias maiores informações acerca do papel da leptina e expressão de receptores nas fases iniciais de transformação neoplásica.

7. CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou relação direta entre obesidade e dislipidemia, hiperglicemia e hiperleptinemia em cadelas. Além disso, verificou-se associação entre obesidade e hiperleptinemia com neoplasias mamárias nesta espécie. Estes achados representam importante contribuição uma vez existem escassos estudos associando os dados acima enumerados em cadelas. Este trabalho abre novas perspectivas para o entendimento de enfermidades cada vez mais frequentes, como a obesidade e os tumores de mama, na espécie canina. Além disso, os resultados aqui observados são semelhantes aos descritos na mulher, o que potencializa a aplicação dos conhecimentos gerados com estudos de obesidade e neoplasias mamárias em cadelas para a espécie humana.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADES, L.; KERBAUY, R.R. Obesidade: realidades e indagações. **Psicologia USP** vol.13, n.1, São Paulo, 2002.

ALANIZ, M.H.F.; T. JULIE.; VALE, M.I.C.A.; LIMA, F.B. O Tecido Adiposo Como Centro Regulador do Metabolismo **Arquivo Brasileiro Endocrinologia e Metabologia**, vol 50, nº 2, Abril 2006.

APPLETON, D. J. et al. Insulin sensitivity decreases with obesity, and lean cats with low insulin sensitivity are at greatest risk of glucose intolerance with weight gain. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 3, p. 211-228, 2001.

ARTWOHL, M.; RODEN, M.; HOLZENBEIN, T.; FREUDENTHALER, A.; WALDHAUSL, W.,; BAUMGARTNER-PARZER, S.M. Modulation by leptin of proliferation and apoptosis in vascular endothelial cells. **Internal Journal Obesity Disorders**. 26:577–580, 2002.

BARTSCH, H., NAIR, J., OWEN, R.W. Dietary polyunsaturated fatty acids and cancers of the breast and colorectum: Emerging evidence for their role as risk modifiers. **Carcinogenesis**, v.20, p.2209-18, 1999.

BASSO, M. K.; FRANÇON, R.; VENTURA, D. Implantação do diagnóstico citopatológico na clínica oncológica de pequenos animais, v. 15, n.3, p.1 – 76, 2008.
Disponível em: <https://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:yywYPKWFaJ:www.fmvz.unesp.br/rvz/index.php/rvz/article/download/442/336+&ht4x>. Acesso em: 1 out 2012.

BARRIE, J.; WATSON, T.D.G.; STEAR, M.J. et al. Plasma cholesterol and lipoprotein concentrations in the dog: the effects of age, breed, gender and endocrine disease. In: Schmidt, C.; Lopes, M.D.; Silva, M.C.; Figuera, R.A.; Souza, T.M.J. **Small Animal Practice**, v.34, p.507-512, 1993.

BENÍTEZ, J.G.S.; QUIROZ, A.O.; ZERÓN, H.M.; MANUEL, L.; OLIVÁN, G. La leptina en la carcinogénesis mamaria: vías de señalización. **Química Viva**, v. 11, n. 2, p. 91-111, 2012.

BLAND, I.M.; GUTHRIE-JONES, A.; TAYLOR, R.D.; HILL, J. Dog obesity: Owner attitudes and behavior. **Preventive Veterinary Medicine**, v.92, p. 333–340, 2009.

BROBST, D.F. Pancreatic function. In: Kaneko J.J.;Harvey J.W.; Bruss M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 5th edn. San Diego: Academic Press, p.353-366, 1997.

BRUNETTO, M.A.; Sá, F.C.; NOGUEIRA, S.P.; GOMES, MDE. O.; PINAREL, A.G.; JEREMIAS, J.T.; DE PAULA, F.J.; CARCIOFI, A.C. The intravenous glucose tolerance and postprandial glucose tests may present different responses in the evaluation of obese dogs. **British Journal of Nutrition**, 2011.

BRUNETTO, M.A.; VASCONCELLOS, S.N.; SÁ, F.C.; FERRAUDO, J.; PEIXOTO, M.; CARCIOFI, A.C. Correspondência entre obesidade e hiperlipidemia em cães. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.41, n.2, p.266-271, Fev 2011.

BURINI, C.H.P. Caracterização clínica, citopatológica e bioquímica do câncer mamário de cadelas sem raça definida. Botucatu - SP, Faculdade de Medicina

Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, 164p. **Dissertação de Mestrado – Área de Clínica Veterinária**, 2002.

BURKHOLDER, W.J.; TOLL, P.W. Controle da obesidade. In: HAND, M. S et al. **Small animal clinical nutrition IV**. Topeka, Kansas: Mark Morris Institute. p.1-44. 1997.

BURKHOLDER, W. J.; TOLL, P. W. Obesidad. In: HAND, M. S. et al. **Nutrición clinica en pequeños animales**. 4ª edição.p. 475-508, 2000.

CALLE, E.E.;Thun MJ Obesity and cancer; **Oncogene**; v.23; 6365– 6378, 2004.

CARCIOFI, A.C.; PRADA, F. Obesidade em cães e gatos. In: **Curso de nutrição básica com enfoques clínicos para cães e gatos**. Anais; Fumvet, p. 66-71, 2004.

CARCIOFI, A.C.; GONÇALVES, K.N.V.; VASCONCELLOS, R.S.; BAZOLLI, R.S.; BRUNETTO, M.A.; PRADA, F. A weight loss protocol and owners participation in the treatment of canine obesity. **Ciencia Rural**, vol.35, no.6, p.1331-1338. ISSN 0103-8478, Dec 2005.

CARVALHEIRA, J.B.C. Hiperatividade Simpática na Obesidade. **Arquivo Brasileiro Endocrinologia Metabologia**, 52/1, 2008.

CASE, L.P.; CAREY, D.P.; HIRAKAWA, D.A. Desenvolvimento e tratamento da obesidade. In: **Nutrição canina e felina: manual para profissionais**. Harcourt: Brace, 1998.

CASSALI, G. D. Estudo morfológico, imuno-histoquímico e citométrico de tumores mamários da cadela – aspectos comparativos com as neoplasias da mama humana. Belo Horizonte: Univ. Fed. de Minas Gerais, p.72, **Tese de Doutorado**, 2000.

CATALANO, S.; MARSICO, S.; GIORDANO, C.; MAURO, L.; RIZZA, P.; PANNO, M.L.; ANDO, S. Leptin enhances, via AP-1, expression of aromatase in the MCF-7 cell line. **Journal biology chemistry**. 278, p. 28668–28676, 2003.

CATCHPOLE, B.; RISTIC, J.M.; FLEEMAN, L.M.; DAVISON, L.J. Canine diabetes mellitus: can old dogs teach us new tricks? **Diabetologia**, v.48, n.10, p. 1948-1956, 2005.

CENTER, S. Obesity prevention. **PetFood Industry**, Illinois, v.45, n.1, p.12-17, 2003.

CHEN, C.; CHANG, Y.C.; LIU, C.L.; CHANG, K.J.; GUO, I.C. Leptin-induced growth of humans ZR-75-1 breast cancer cells is associated with up-regulation os cyclin D1 and c_Myc and down-regulation os tumors suppressor p53 and p21WFA1/CIP1. **Breast Cancer Research and Treatment**, 98, 121-132, 2006.

CLEARY MP, GROSSMANN ME: Minireview: obesity and breast cancer: the estrogen connection. **Endocrinology**, 150:2537–2542, 2009.

CLEARY, M.P.; GROSSMANN, M.E.; RAY, A. Effect of obesity on breast cancer development. **Veterinary Pathology** 47(2) 202-203, 2010.

CONSIDINE, R. V. et al. Serum immunoreactive leptin concentrations in normalweight and obese humans. **New England Journal of Medicine**, v. 334, p. 292-295, 1996.

COSKUN, U.; GUNEL, N.; TORUNER, F.B.; SANCAK, B.; ONUK, E.; BAYRAM, O.; CENGIZ, O.; YILMAZ, E.; ELBEG, S.; OZKAN, S. Serum leptin, prolactin and vascular endothelial growth factor (VEGF) levels in patients with breast cancer, **Neoplasma**, v.50, p.41-46, 2003.

COTRAN, R.S.; KUMAR, V.; ROBBINS, S.L. **Patologia estrutural e funcional**. 6.ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 1400p, 2000.

DAGLI, M.L.Z. The search for suitable prognostic markers for canine mammary tumors: A promising outlook. **The Veterinary Journal**. v.177, 3-5, 2008.

DE MARCO, V.; RUIZ, E.G.N. Avaliação da frequência de síndrome metabólica em cães obesos e tratamento da obesidade canina com o uso da ração equilíbrio Veterinary O&D da Total alimentos. **Fórum Vet: informativo técnico**, n.1, São Paulo, 2012.

DE NARDI, A. B. et al. Prevalência de neoplasias e modalidades de tratamento em cães atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal do Paraná. **Archives of Veterinary Science**, v. 7, n. 2, p. 15-26, 2002.

DE NARDI A. B.; RODASKI S.; ROCHA N. S.; Fernandes S. C. **Oncologia em cães e gatos**. Editora Roca, São Paulo. p. 489-496, 2008.

DE NARDI, A. B. Correlação da ciclooxigenase-2 com ki-67, p53 e caspase-3 nas neoplasias de mama em cadelas. 2007. **Tese de doutorado - Faculdade de ciências agrária e veterinária**. Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2008.

DIEZ, M. et al. Evolution of blood parameters in experimental obese beagle dogs. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 88, p. 166-171, 2004.

DIEZ, M.; NGUYEN, P. Obesity: epidemiology, pathophysiology and management of the obese dog. In: PIBOT, P. et al. **Encyclopedia of canine clinical nutrition**, 2006.

DIEUDONNE, M.N.; BUSSIERE, M.; DOS SANTOS, E.; LENEVEU, M.C.; GIUDICELLI, Y.; PECQUERY, R. Adiponectin mediates antiproliferative and apoptotic responses in human MCF7 breast cancer cells. **Biochemistry Biophys Commun** 345:271–279, 2006.

EDNEY, A.T.B.; SMITH, P.M. Study of obesity in dogs visiting veterinary practices in the United Kingdom. **The Veterinary Record**, London, v.118, n.14, p.391-396, 1986.

FERNANDES, S. C. Análise mutacional da região dos exons 5 a 8 do gene supressor de tumor p53 em neoplasias mamárias caninas. 2008 56p. **Dissertação de mestrado - Faculdade de ciências agrária e veterinária**. Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2008.

FILHO, J. C. O. et al. Estudo retrospectivo de 1.647 tumores mamários em cães. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. n. 30, v. 2, p. 177-185, fevereiro 2010.

FISER, R.H.; ROLLINS, J.B.; BEISEL, W.R. Decreased resistance against infectious canine hepatitis in dogs fed a high-fat ration. **American Journal Veterinary Research**, Schaumburg, v.3, n.4, p.713-719, 1972.

FELICIANO, M. A. R.; JOÃO, C. F.; CARDILLI, D. J. Neoplasia mamária em cadelas – Revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, n. 18, 2012. Disponível em: < <http://www.revista.inf.br/veterinaria18/revisao/RV01.pdf>>. Acesso em: 10 out. 2012.

FONSECA, C.S.; DALECK, C.R. Neoplasias mamárias em cadelas: influência hormonal e efeitos da ovariectomia como terapia adjuvante. **Ciência Rural**, v.30, n.4, p.731-735, 2000.

FRANKENBERRY, K.A.; SKINNER, H.; SOMASUNDAR, P.; MCFADDEN, D.W.; VONA-DAVIS, L.C. Leptin receptor expression and cell signaling in breast cancer. **Internal Journal Oncology** 28:985–993, 2006.

FUJITA, Y.; MURAKAMI, M.; OGAWA, Y.; MASUZAKI, H.; TANAKA, M.; OZAKI, S.; NAKAO, K.; MIMORI, T. Leptin inhibits stress-induced apoptosis of T lymphocytes. **Clinical Immunology** 128:21–26, 2002.

GAROFALO, C.; SISCI, D.; SURMACZ, E. Leptin interferes with the effects of the antiestrogen ICI 182,780 in MCF-7 breast cancer cells. **Clinical Cancer Research** 10:6466–6475, 2004.

GAROFALO, C.; SURMACZ, E. Leptin and Cancer. **Journal of cellular physiology**, 207:12–22, 2006.

GAROFALO C.; KODA, M.; CASCIO, S.; SULKOWSKA, M.; KANCZUGA-KODA, L.; GOLASZEWSKA, J.; RUSSO, A.; SULKOWSKI, S.; SURMACZ, E. Increased Expression of Leptin and the Leptin Receptor as a Marker of Breast Cancer Progression: Possible Role of Obesity-Related Stimuli. **Clinical Cancer Research**, 12:1447-1453, 2006.

GAYET, C.; BAILHACHE, E.; DUMON, H. Insulin resistance and changes in plasma concentration of TNF, IGF-1, and NEFA in dogs during weight gain and obesity. **J Animal Nutrition**, 157–65, 2004.

GERMAN, A.J.; HOLDEN, S.; MOXHAM, G.L. Simple, reliable tool for owners to assess the body condition of their dog or cat. **Journal of Nutrition**, 136, p. 2031-2033, 2006.

GERMAN, A.J. The growing problem of obesity in dogs and cats. **Journal of Nutrition**, v.136, p.1940S-1946S, 2006.

GERMAN, A. J. et al. Improvement in insulin resistance and reduction in plasma inflammatory adipokines after weight loss in obese dogs. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 27, p. 214-226, 2009.

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

GLICKMAN, L.T.; SCHOFER, F.S.; MCKEE, L.J.; REIF, J.S.; GOLDSCHMIDT, M.H.; Epidemiologic study of insecticide exposure, obesity, risk of bladder cancer in household dogs. **Journal Toxicology Environment Health**; v. 28; 407–414; 1989.

GONZALEZ, R.R.; WATTERS, A.; XU, Y.; SINGH, U.P.; MANN, D.R.; RUEDA, B.R.; PENICHER, M.L. Leptin-signaling inhibition results in efficient anti-tumor activity in estrogen receptor positive or negative breast cancer. **Breast Cancer Research**, 11:R36, 2009.

GOSMIDE, P. R. S.; BRANDÃO, C. V. S.; RANZANI, J. J. T. et al. Estudo retrospectivo de cadelas portadoras de neoplasias mamárias submetidas à mastectomia. **Botucatu, CAD, 2009. Disponível em: <http://prope.unesp.br/xxi_cic/27_31782303863.pdf>. Acesso em: 01 out. 2012.**

GRECO, D.S. Life is shorter, if you eat desert first: clinical implications of the purina 448 study. In: **The Purina Pet Institute Symposium**, St. Louis: Nestlé Purina, p.35-38, 2002.

GREENWALD, P. Role of dietary fat in the causation of breast cancer: point. **Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention**, v.8, p.3-7, 1999.

GROSSMANN, M.E.; RAY, A.; DOGAN, S.; MIZUNO, N.K.; CLEARY, M.P. Balance of adiponectin and leptin modulates breast cancer cell growth. **Cell Research** 18:1154–1156, 2008.

GUIMARÃES, A.L.N.; TUDURY, E.A. Etiologias, consequências e tratamentos de obesidades em cães e gatos – Revisão. **Veterinária Notícias**, v.12, n.1, p. 29-41, 2006.

GUIMARÃES, D. E. D. et al. Adipocitocinas: uma nova visão do tecido adiposo. **Revista de Nutrição**, v. 20(5), p. 549-559, 2007.

HAND, M.S.; ARMSTRONG, P.J.; ALLEN, T.A. Obesity: occurrence, treatment and prevention. *The Veterinary Clinics of North America: **Small Animal Practices***, Philadelphia, v.19, n.3, p. 447-474, 1989.

HANKINSON SE, WILETT WC, MANSON JE: Plasma sex steroid hormone levels and risk of breast cancer in postmenopausal women. ***Journal of the National Cancer Institute***, 90:1292–1299, 1998.

HARVIE, M.; HOOPER, L.; HOWELL, H. Central obesity and breast cancer risk: a systematic review, ***Obesity Review***, 4(3):157-73, 2003.

HAVEL, P.J. Peripheral signals conveying metabolic information to the brain: short-term and long-term regulation of food intake and energy homeostasis. ***Experimental Biology and Medicine***, 226, 963-977, 2001.\

HAVEL, P. J. Update on adipocyte hormones: regulation of energy balance and carbohydrate/lipid metabolism. ***Diabetes***, v. 53 (Sup. 1), p. S143-151, 2004.

HESS, R.S. et al. Association between diabetes mellitus, hypothyroidism or hyperadrenocorticism, and atherosclerosis in dogs. ***Journal Veterinary Internal Medicine***, v.17(4), p.489-94, Jul-Aug, 2003.

HSU, W.; HUANG, H.; LIAO, J.; WONG, M.; CHANG, S. Increased survival in dogs with malignant mammary tumours overexpressing HER-2 protein and detection of a silent single nucleotide polymorphism in the canine HER-2 gene. ***The Veterinary Journal***. v.180, p.116-123, 2009.

HU, X.; JUNEJA, S.C.; MAIHLE, N.J.; CLEARY, M.P. Leptin—a growth factor in normal and malignant breast cells and for normal mammary gland development. **J National Cancer Institute** 94:1704–1711, 2002.

HU, X.; JUNEJA, S.C.; MAIHLE, N.J.; CLEARY, M.P. Leptin—A Growth Factor in Normal and Malignant Breast Cells and for Normal Mammary Gland Development, **Journal of Clinical Oncology**, 2003.

INADERA, H. The usefulness of circulating adipokine levels for the assessment of obesity-related health problems. **Internal Journal Medicine Science**; 248–62; 2008.

ISHIKAWA, M.; KITAYAMA, J.; NAGAWA, H. Enhanced Expression of Leptin and Leptin Receptor (OB-R) in Human Breast Cancer, **Clinical Cancer Research**, v.10, 4325–4331, 2004.

ISHIOKA, K., SOLIMAN, M.M., SAGAWA, M., NAKADOMO, F., SHIBATA, H., HONJOH, T., HASHIMOTO, A., KITAMURA, H., KIMURA, K., SAITO, M. Experimental and clinical studies on plasma leptin in obese dogs. **Journal Veterinary Medicine Science**, 349–353, 2002.

ISHIOKA, K.; HOSOYA, K.; KITAGAWA, H.; SHIBATA, H.; HONJOH, T.; KIMURA, K.; SAITO, M. Plasma leptin concentration in dogs: effects of body condition score, age, gender and breeds. **Research Veterinary Science**. Feb; 82(1):11-5, 2007.

JARDE, T.; CALDEFIE-CHEZET, F.; DAMEZ, M.; MISHELLANY, F.; PENAULT-LLORCA, F.; JUILLLOT, J.; VASSON, M.P. Leptin and leptin receptor involvement in cancer development: a study on human primary breast carcinoma. **Oncology Reports**, 19:905–911, 2008.

JARDE, T.; CALDEFIE-CHE´ZET, F.; GONCALVES-MENDES, N.; MISHELLANY, F.; BUECHLER, C.; PENNAULT-LLORCA, F.; VASSON, M.P. Involvement of adiponectin and leptin in breast cancer: clinical and in vitro studies. **Endocrine-Related Cancer**, 16, 1197–1210, 2009.

JARDE, T.; PERRIER, S.; MARIE-PAULE, V.; CALDEFIE-CHE´ZET, F. Molecular mechanisms of leptin and adiponectin in breast cancer, **European Journal of cancer**, 47, 33–43, 2011.

JENSEN, A.L.; AAES, H. Reference interval and critical difference for canine serum fructosamine concentration, **Veterinary Research Commun**, 16, 317-325, 1992.

JERICÓ, M.M.; SCHEFFER, K.C. Aspectos epidemiológicos dos cães obesos na cidade de São Paulo. **Clínica Veterinária**, São Paulo, n.37, p.25-29, 2002.

JERICÓ, M.M.; ALBINATI, J.M.; FUSCO, F.B. Estudo sobre os hábitos alimentares e as atividades físicas de cães obesos da cidade de São Paulo e seus reflexos no balanço metabólico. **Clínica Veterinária**. Ano XIV, n.81, p.54-60, 2009.

JEUSETTE, I.C.; LHOEST, E.T.; ISTASSE, L.P.; DIEZ, M.O. Influence of obesity on plasma lipid and lipoprotein concentrations in dogs. **American Journal Veterinary Research**, v.66(1), p.81-6, 2005.

JOHNSON, S. The causes of breast cancer. In: _____. **Detection and treatment of early breast cancer**. London: Martin Dunitz, cap. 1, p.1-30, 1990.

JOHNSON, K.R. Hiperlipidemia canina. In: ETTINGER, S.J. **Tratado de medicina interna veterinária**. In: Schmidt, C.; Lopes, M.D.; Silva, M.C.; Figuera, R.A.; Souza, T.M. 3.ed. São Paulo: Manole. V.1, p.210-215, 1992.

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

JOSHUA, J.O. The obese dog and some clinical repercussions. **Journal of Small Animal Practice**, London, v.11, n.9, p.601-606, 1970.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. K.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**, 5 ed., New York: Elsevier, p. 177- 208, 1997.

KAWAMOTO, M.; KANEKO, J.J.; HEUSNER, A.A.; FELDMAN, E.C.; KOIZUMI, I. Relation of fructosamine to serum protein, albumin and glucose concentrations in healthy and diabetic dogs, **American Journal Veterinary Research**, v. 53, 851-855, 1992.

KAYALA, K. J. et al. Obesity Induced by a High-Fat Diet is Associated with Reduced Brain Insulin Transport in Dogs. *Diabetes*, v. 49, p. 1525-1533, 2000. **Disponível em:** <http://diabetes.diabetesjournals.org/cgi/reprint/49/9/1525>. Acesso em 25/11/2006.

KIENZLE, E.; BERGLER, R.; MANDERNACH, A. A comparison of feeding behavior and the human-animal relationship in owners of normal and obese dogs. **Journal Nutrition**, Bethesda, v.128, n.12, p.2779S-2782S, 1998.

KIL, D.Y.; SWANSON, K.S. Endocrinology of Obesity. **Veterinary Clinical Small Animal**; 205–219; 2010.

KIM, S.; POPKIN, B.M. Commentary: understanding the epidemiology of overweight and obesity – a real global public health concern. **International Journal of Epidemiology**, 60–67, 2006.

KONOPLEVA, M.; MIKHAIL, A.; ESTROV, Z.; ZHAO, S.; HARRIS, D.; SANCHEZ-WILLIAMS, G.; KORNBLAU, S.M.; DONG, J.; Kliche, K.O.; JIANG, S.; SNODGRASS, H.R.; ESTEY, E.H.; ANDREEFF, M. Expression and function of leptin receptor isoforms in myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes: proliferative and anti-apoptotic activities. **Blood** 93:1668–1676, 1999.

LAUD, K.; GOURDOU, I.; PESSEMESE, L.; PEYRAT, J.P.; DJIANE, J. Identification of leptin receptors in human breast cancer: functional activity in the T47-D breast cancer cell line. **Molecular Cell Endocrinology**, 188:219–226, 2002.

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

LAFLAMME, D.P. Understanding and managing obesity in dogs and cats., **Veterinary Clinical North American Small Animal Practice**, v.36(6), p.1283-1295, nov 2006.

LAFLAMME, D.P. Obesity in dogs and cats: What is wrong with being fat? **Journal Animal Science**. May; 90(5):1653-62, 2012.

LAWLOR, D.A.; SMITH, G.D.; EBRAHIM, S. Increased risk of breast cancer: findings from the British Women's Heart and Health Study. **Cancer Causes Control** 15, 267-275, 2004.

LEE, C. H.; KIM, W. H.; LIM, J. H.; KANG, M. S.; KIM, D. Y.; KWEON, O. K. Mutation and overexpression of p53 as a prognostic factor in canine mammary tumors. **Journal of Veterinary Science**, v. 5, n. 1, p.63-69, 2004.

LEWIS, L.D.; MORRIS, M.L.; HAND, M.S. Obesity. In: LEWIS, L.D.; MORRIS, M.L.; HAND, M.S. **Small Animal Clinical Nutrition III**. Kansas: Mark Morris Institute, v.6, p. 1-39, 1994.

LIMA, F.B. Tecido Adiposo: Uma Breve Perspectiva Histórica e o Momento Atual. **Arquivo Brasileiro Endocrinologia e Metabologia**. 52/6, 2008;

LOPES, I.M.; MARTI, A.; ALIAGA, M.J.M. Aspectos genéticos da obesidade **Revista Nutrição**, Campinas, 17(3):327-338, jul./set., 2004.

LOSTE, A.; MARCA, M.C. Study of the effect of total serum protein and albumin concentrations on canine fructosamine concentration. **Canine Journal Veterinary**; 63; 138-141, 1999.

LOSTE, A.; MARCA, M.C. Fructosamine and glycated hemoglobin in the assessment of glycaemic control in dogs. **Veterinary Research**, 32, 55-62, 2001.

LUND, E. M. et al. Prevalence and risk factors for obesity in adult dogs from private US Veterinary Practices. **International Journal of Applied Research Veterinary Medical**, v. 4, p. 177-186, 2006.

MacEWEN, E.G., WITHROW, J.S. Tumors of the mammary gland. In: _____. **Small animal clinical oncology**. Philadelphia: W.B. Saunders Company, p.356- 72, 1996.

MAFFEI, M. et al. Leptin levels in humans and rodents: measurement of plasma leptin and *ob* RNA in obese and weight-reduced subjects. **Nature Medicine**, v. 1, p. 1155-1161, 1995.

MARKWELL, P.J.; BUTTERWICK, R.F. Obesity. In: WILLS, J.M.; SIMPSON, K.W. **The waltham book of clinical nutrition of dog & cat**, Pergamon, p.131-148, 1994.

MARKWELL, P.J.; EDNEY, A.T.B. The obese animal. In: WILLS, J.; KELLY, N. **Manual of companion animal nutrition & feeding**. Cheltenham, p.108-115, 2000.

MARTIN, L. et al. Leptin, body fat content and energy expenditure in intact and gonadectomized adult cats: a preliminary study. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 85, p. 189 – 194, 2001.

MARTIN, L.J.M.; SILIART, B.; DUMON, H.J.W. Hormonal disturbance associated with obesity in dogs. **Journal Animal Physiology Nutrition**; 355–60, 2006.

MASON, E. Obesity in pet dogs. **The veterinary record**, London, v.86, n.21, p.612, 1970.

MATOS, A.F.G., MOREIRA, R.O., GUEDES, E.P. Aspectos euroendócrinos da Síndrome Metabólica. **Arquivo Brasileiro Endocrinologia e Metabologia**. Vol 47, nº 4, 2003.

MAURO, L.; CATALANO, S.; BOSSI, G.; PELLEGRINO, M.; BARONE, I.; MORALES, S.; GIORDANO, C.; BARTELLA, V.; CASABURI, I.; ANDO, S. Evidences that leptin up-regulates E-cadherin expression in breast cancer: effects on tumor growth and progression. **Cancer Research** 67:3412–3421, 2007.

MAZAKI-TOVI, M.; ABOOD, S.K.; SCHENCK, P.A. Effect of omega-3 polyunsaturated fatty acids and body condition on serum concentrations of adipokines in healthy dogs. **American Journal of Veterinary Research**; v. 73, n. 8, p. 1273-1281, 2012.

McGreevy, P.D., Thomson, P.C., Pride, C., Fawcett, A., Grassi, T., Jones, B. Prevalence of obesity in dogs examined by Australian veterinary practices and the risk factors involved. **Veterinary Research**, 695–702. 2005.

MERLO, D.F. Cancer Incidence in Pet Dogs: Findings of the Animal Tumor Registry of Genoa, Italy. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.22, n. 4, p. 976 – 984, 2008.

MIYOSHI, Y.; FUNAHASHI, T.; TANAKA, S.; TAGUCHI, T.; TAMAKI, Y.; SHIMOMURA, I.; SHINZABURO, N. High expression of leptin receptor mRNA in breast cancer tissue predicts poor prognosis for patients with high, but not low, serum leptin levels. **Internal Journal Cancer**, 118, 1414–1419, 2006.

MONTEIRO, J.B.R. **Curso de atualizações em obesidade: do seu aparecimento ao seu controle nutricional**. Universidade Federal de Viçosa, 1999.

MORI, N.; LEE, P.; KONDO, K.; KIDO, T.; SAITO, T.; ARAI, T. Potential use of cholesterol lipoprotein profile to confirm obesity status in dogs, **Veterinary Research Commun**, 35:223–235, 2011.

MOTOKURA, T.; BLOOM, T.; KIM, H.G. A novel cyclin encoded by a bcl1-linked candidate oncogene, **Nature**, 350:512, 1991.

MOTTA, F. R. Imunorreatividade da prostaglandina e2 relacionada a classificação histológica, estadiamento clínico e prognóstico de neoplasias mamárias em cadelas. 2008. **Dissertação de mestrado – Faculdade de ciências agrária e veterinária. Universidade Estadual Paulista**, Jaboticabal, 2008.

MULLER, D.C.M., SCHOSSLER, J.E.W. Adaptação do índice de massa corporal humano para cães de companhia. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.4, p.1038-1043, jul, 2008.

NGUYEN, P., DIEZ, M. Obesity: epidemiology, pathophysiology and management of the obese dogs. In: PIBOT, P; BIORGE, V; ELLIOT, D. **Encyclopedia of Canine Clinical Nutrition**, 1ed, p. 2 a 43, 2006.

NISHI, N.; NODAKE, H.; TAKASU, M.; SOE, O.; OHBA, Y.; MAEDA, S.; OHTSUKA, Y.; HONJO, T.; SAITO, M.; KITAGAWA, H. Postprandial changes in leptin concentrations of cerebrospinal fluid in dogs during development of obesity. **American Journal Veterinary Research**. Dec;67(12):2006-11, 2006.

NISHII, N.; YAMASAKI, M.; TAKASU, M.; HONJOH, T.; SHIBATA, H.; OTSUKA, Y.; TAKASHIMA, S.; OHBA, Y.; KITAGAWA, H. Plasma Leptin Concentration in Dogs with Diabetes Mellitus, **Journal Veterinary Medicine Science**, 72(6): 809–811, 2010.

NKHATA, K.J.; RAY, A.; DOGAN, S.; GRANDE, J.P.; CLEARY, M.P. Mammary tumor development from T47-D human breast cancer cells in obese ovariectomized mice with and without estradiol supplements, **Breast Cancer Reserach Treatment**, 2006.

NOMURA, Y.; MIURA, S.; KOYAMA, H.; ENOMOTO, K.; KASUMI, F.; YAMAMOTO, H.; KIMURA, M.; TOMINAGA, T.; IINO, H.; MORIMOTO, T. Relative effect of steroid hormone receptors on the prognosis of patients with operable breast cancer: a univariate and multivariate analysis of 3089 Japanese patients with breast cancer from the Study Group for the Japanese Breast **Cancer Society on Hormone Receptors and Prognosis in Breast Cancer**. 69:153–164, 1992.

NORRIS, M.P.; BEAVER, B.V. Application of behavior therapy techniques to the treatment of obesity in companion animals. **Journal of the American veterinary medical association**, Schaumburg, v.202, n.5, p.728-730, 1993

OKUMURA, M.; YAMAMOTO, M.; SAKUMA, H.; KOJIMA, T.; MARUYAMA, T.; JAMALI, M.; COOPER, D.; YASUDA, K. Leptin and high glucose stimulate cell proliferation in MCF-7 human breast cancer cells: reciprocal involvement of PKC-alpha and PPAR expression. **Biochemistry Biophys Acta** 1592:107–116, 2002.

OLIVEIRA, S.B.C. Sobre homens e cães: um estudo antropológico sobre afetividade, consumo e distinção. **Dissertação de mestrado em Sociologia e Antropologia**. Universidade federal do Rio de Janeiro, 2006.

PAULA, A. C. B. Imunomarcção de proteínas de estresse (hsp 27, hsp 72 e hsp 90) e proteína p53 em neoplasias mamárias de cadelas. 2010. **Dissertação de mestrado - Faculdade de ciências agrária e veterinária**. Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2010.

PERERA, C.N.; SPALDING, H.S.; MOHAMMED, S.I.; CAMARILLO, I.G. Identification of proteins secreted from leptin stimulated MCF-7 breast cancer cells: a dual proteomic approach. **Experimental Biology Medicine** 233:708–720, 2008.

PEREZ ALENZA, M.D., RUTTEMAN, G.R., PEÑA, L. et al. Relation between habitual diet and canine mammary tumors in a case-control study. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.12, n.3, p.132-9, 1998.

PEREZ AMD, Peña L, Nieto AI, Castillo N. Factors Influencing the Incidence and Prognosis of Canine Mammary Tumours. **Journal of Small Animal Practice**: 287-291, 2000.

PIEKARZ, C.H.; BIONDO, A.W.; AMORIM, R.L.; RODASKI, S.; BARROS FILHO, I.R.; DE NARDI, A.B. Expressão das caderinas nos tumores mamários em cadelas. **Archives of Veterinary Science**. v.13, n.1, p.13-21, 2008.

PINOTTI, J.A., TEIXEIRA, L.C. Câncer de mama: Importância, epidemiologia e fatores de risco. In: _____. **Tratado de ginecologia**. 3ed., v.3, São Paulo: Roca, cap. 180, p.2019-22, 2000.

QUEIROGA, F. & LOPES, C. Tumores mamários caninos, pesquisa de novos factores de prognóstico. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**. v.97, n.543, p.119-127, 2002.

QUON, H.; LIU, F.F.; CUMMINGS, B.J. Potencial molecular prognostic marker in head and neck squamous cell carcinomas. **Head Neck**, 147-159, 2001.

RADIN, M.J.; SHARKEY, L.C.; HOLYCROSS, B.J. Adipokines: a review of biological and analytical principles and update in dogs, cats, and horses. **Veterinary Clinical Pathology**, v.38, p.136-156, 2009.

RAY, A; NKHATA, K.J; CLEARY, M.P. Effects of leptin on human breast cancer cell lines in relationship to estrogen receptor and HER2 status. **Internal Journal Oncology**, v.30; 1499 –1509, 2007.

REDINGER, R.N. The pathophysiology of obesity and its clinical manifestations. **Gastroenterology and Hepatology**, 856–863, 2007.

RENEHAN, A.G.; FRYSTYK, J.; FLYVBJERG, A. Obesity and cancer risk: the role of the insulin-IGF axis. **Trends in Endocrinology and Metabolism**, 328–336, 2006.

RESSEL, L.; FINETELLO, R.; INNOCENTI, V.W.; VANNOZZI, I.; POLE,A. Preliminary report on the expression of leptin and leptin receptor (ObR) in normal, hiperplastic and neoplastic canine mammary tissues. **Research Veterinary Science**. Aug; 93(1):343-9, 2012.

REUSCH, C.E.; HABERER, B. Evaluation of fructosamine in dogs and cats with hypo or hyperproteinaemia, azotaemia, hyperlipidaemia and hyperbiliruninaemia. **Veterinary Research**, 148(12), 376-376, 2001.

REUSCH, C.E.; GERBER, B.; BORETTI, F.S. Serum fructosamine concentrations in dogs with hypothyroidism. **Veterinary Research Communications**, 531-36, 2002.

RICCI, R.; BEVILACQUA, F. The potential role of leptin and adiponectin in obesity: a comparative review. **Veterinary Journal**, 191(3):292-8, 2012.

ROBERTS, S.B.; HEYMAN, M.B. Dietary compositions and obesity: do we need to look beyond dietary fat? **Journal nutrition**, Bethesda, v.130, n.2, p.267S, 2000.

ROLLS, B.J. The role of energy density in the overconsumption of fat. **Journal of Nutrition**, v.130, p.268S-271S, 2000.

RUTTEMAN, G.R.; KIRPENSTEIJN, J. Tumours of Mammary Glands. **Manual of Canine and Feline Oncology**. BVA. 2nd edition: 234- 239, 2003.

SAGAWA, M.M.; NAKADOMO, F.; HONJOH, T.; ISHIOKA, K.; SAITO, M. Correlation between plasma leptin concentration and body fat content in dogs. **American Journal Veterinary Research**, Jan; 63(1):7-10, 2002.

SALMERI, K.R.; OLSON, P.N.; BLOOMBERG, M.S. Elective gonadectomy in dogs: a review. **Journal of the American veterinary medical association**, Schaumburg, v.198, n.7, p.1183-1192, 1991.

SANCHES, J.C. Perfil fisiológico de la leptina. **Columbia Médica**, vol.36, n. 1, 2005.

SAUTER, E.R.; GAROFALO, C.; HEWETT, J.; HEWETT, J.; MORELLI, C.; SURMACZ, E. Leptin Expression in Breast Nipple Aspirate Fluid (NAF) and Serum is Influenced by Body Mass Index (BMI) but not by the Presence of Breast Cancer, **Hormone and Metabology Research.**, 36(5):336-40, 2004.

SAXENA, N.K.; VERTINO, P.M.; ANANIA, F.A.; SHARMA, D. Leptin-induced growth stimulation os breast câncer cells involves recruitment of histone acetyltrasnferases and mediator complex to CYCLIN D1 promoter via activation os Stat3. **Journal Biological Chemistry**, 282, 13316-13325, 2007.

SCHENCK, P.A. Canine hyperlipidemia: causes and nutritional management. In: PIBOT, P.; BIOURGE, V.; ELLIOT, D.A. **Encyclopedia of canine clinical nutrition**, p.222-251, 2006.

SHIGEHIRO, F.; RIELLA, A.C.M.; GUGELMIN, C.; SILVA, C.J.; BORSARI, A.P. Leptina – expectativas de uso no tratamento da obesidade. **Ciência e Cultura**, n.26, p.59-68, Curitiba, 2002.

SIKARIS, K.A. The clinical biochemistry of obesity. **Clinical Biochemistry Reviews**; 25(3):165–81, 2004.

SILVA, A.E.; SERAKIDES, R.; CASSALI, G.D. Carcinogênese hormonal e neoplasias hormônio-dependentes. **Ciência Rural**, v.34, n.2, p.625-633, 2004.

SILVA, H.C.; BARION, M.R.L.; ALVARES, A.A.A.; SANTOS, J.M.G. Distúrbios metabólicos em animais obesos, **Anais Eletrônicos VI Mostra Interna de Trabalhos de Iniciação 9, 2012.**

SLOTH, C. Practical management of obesity in dogs and cats. **Journal of small animal practice**, London, v.33, n.4, p.178-182, 1992.

SOMA, D.; KITAYAMA, J.; YAMASHITA, H.; MIYATO, H.; ISHIKAWA, M.; NAGAWA, H. Leptin augments proliferation of breast cancer cells via transactivation of HER2. **Journal Surgical Research**, 113, 50-53, 2008.

SOMASUNDAR, P.; YU, A.K.; VONA-DAVIS, L.; MCFADDEN, D.W. Differential effects of leptin on cancer in vitro. **Journal Surgery Research** 113:50–55, 2003.

SONNENSCHNEIN, E.G.; GLICKMAN, L.T.; GOLDSCHMIDT, M.H.; MCKEE, L.J.; Body conformation, diet, and risk of breast cancer in pet dogs: a case-control study. **American Journal Epidemiology** 133:694–703, 1991.

SONNENSCHNEIN, E.G., GLICKMAN, L.T., GOLDSCHMIDT, M.H. et al. Body conformation, diet, and risk of breast cancer in pet dogs: a case-control study. **American Journal of Epidemiology**, v.133, n.7, p.694-703, 1991.

SORENMO, K. Canine mammary gland tumors. The Veterinary Clinics of North America and **Small Animal Practice**. May;33:573-596, 2003.

SORENMO, K. U.; RASOTTO, R.; ZAPPULLI, V. GOLDSCHMIDT, M. H. Development, Anatomy, Histology, Lymphatic Drainage, Clinical Features, and Cell Differentiation Markers of Canine Mammary Gland Neoplasms, **Veterinary Pathology**, 48(1) 85-97, 2010.

SPENCER, E.; KEY, T.; Obesity and cancers of the endometrium and breast. **Reviews Obesity**; vol.9; 668–671; 2003.

TESSITORE, L.; VIZIO, B.; JENKINS, O.; DE STEFANO, I.; RITOSSA, C.; ARGILES, J.M. eptin expression in colorectal and breast cancer patients. **Internal Journal Molecular Medicine**, 5:421–6, 2000.

TESSITORE, L.; VIZIO, B.; PESOLA, D.; CECCHINI, F.; MUSSA, A.; ARGILES, J.M.; BENEDETTO, C. Adipocyte expression and circulating levels of leptin increase in both gynaecological and breast cancer patients. **Internal Journal Oncology**, 24(6):1529-35, 2004.

THATCHER, C.D.; HAND, M.S.; REMILLARD, R.L. Small animal clinical nutrition: Na iterative process. In: HAND, M.S.; THATCHER, C.D.; REMILLARD, R.L. **Small animal clinical nutrition**, 5th ed, Missouri: Walsworth Publishing Company, 2010.

The American Daibetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. **Diabetes Care**, 31 (suppl), 55-60, 2008.

TVARIJONAVICIUTE, A.; CERON, J.J.; NARTINES-SUBIELA, S. Assessment of five ELISAs for measurement of leptin concentrations in dogs. **American Journal Veterinary Research**, Feb;72(2):169-73, 2011.

TYMCHUK CN, TESSLER SB, BARNARD RJ: Changes in sex hormonebinding globulin, insulin, and serum lipids in postmenopausal women on a low-fat high-fiber diet combined with exercise. **Nutrition Cancer**, 38:158–162, 2001.

VEIGA, A.P.M. Obesidade e diabetes mellitus em pequenos animais. In: González, F.H.D., Santos, A.P.: **Anais do II Simpósio de patologia clínica veterinária da**

região sul do brasil. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p.82-91, 2005.

VELLOSO, L.A. O controle hipotalâmico da fome e da termogênese – Implicações no desenvolvimento da obesidade. **Arquivo Brasileiro Endocrinologia e Metabologia**, v. 50, n. 02, 2006.

VERKEST, K.R.; FLEEMAN, L.M.; MORTON, J.M.; ISHIOKA, K.; RAND, J.S. Compensation for obesity-induced insulin resistance in dogs: assessment of the effects of leptin, adiponectin, and glucagon-like peptide-1 using path analysis. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 41; Issue 1, p. 24–34, 2011.

VERKEST, K.R.; RAND, J.S.; FLEEMAN, L.M.; MORTON, J.M. Spontaneously obese dogs exhibit greater postprandial glucose, triglyceride, and insulin concentrations than lean dogs. **Domestic Animal Endocrinology** 42, 103–112, 2012.

WANG, Y.; LAM, J.; LAM, K.S.; LIU, J.; LAM, M.C.; HOO, R.L.; WU, D.; COOPER, G.J.; XU, A. Adiponectin modulates the glycogen synthase kinase-3beta/beta-catenin signaling pathway and attenuates mammary tumorigenesis of MDA-MB-231 cells in nude mice. **Cancer Research** 66:11462–11470, 2006.

WAJCHENBERG, B.L. Tecido adiposo como glândula endócrina. **Arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia** 44, 13-20, 2000.

WHITNEY, M. S. Evaluation of hyperlipidemias in dogs and cats. **Seminars in Veterinary Medicine and Surgery**, v. 7, p. 292-300, 1992

WITHROW, S. J., VAIL, D. M. Withrow & MacEwen's. **Small Animal Clinical Oncology**. St. Louis, 4ed, Ed. Saunders Elsevier, 2007.

WOLFSHEIMER, K.J.; Obesidade. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**.
ETTINGER, E.J.; FEDMAN, E.C. 5ed, cap.10, vol.1, p.72-75.

YIN, N.; WANG, D.; ZHANG, H.; YI, X.; SUN, X.; SHI, B.; WU, H.; WU, G.; WANG, X.; SHANG, Y. Molecular mechanisms involved in the growth stimulation of breast cancer cells by leptin. **Cancer Research** 64:5870–5875, 2004.

ZICKER, S.C.; FORD, R.B.; NELSON, R.W.; KIRK, C.A. Transtornos endócrinos y de los lípidos. Nutricion Clínica de los pequenos animales. **Small Animal**. Hand, Tatcher, Remilard & Roudebush. 4 ed, p.1020-1022, 2000.

ZORAN, L.D. Obesity in Dogs and Cats: A Metabolic and Endocrine Disorder. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**; v.40; p. 221–39, 2010.

ZUCCARI, D.A.P.C. Contribuição ao estudo imunoistoquímico dos tumores mamários em cadelas. Jaboticabal - SP, Universidade Estadual Paulista – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP – Jaboticabal, 121p. **Dissertação de mestrado**, Patologia Animal, 1999.

9. APÊNDICES

9.1. APÊNDICE 1: Ficha clínica dos grupos G2 e G4.

FICHA CLÍNICA - CADELAS COM TUMOR MAMÁRIO

Nome: _____ Raça: _____ Pelagem: _____ Data de Nascimento: _____
Proprietário: _____ Endereço: _____
Telefone (s): _____ e-mail: _____
Peso (Kg): _____

Está de jejum () SIM () NÃO Quanto tempo? _____

ANAMNESE TUMORAL

Histórico da doença – tumor de mama (início, sinais, sintomas): _____

Perda de peso: () SIM () NÃO Intolerância do exercício: () SIM () NÃO Animal castrado: () SIM () NÃO Quando? _____
Início da puberdade: _____ Numero eaios: _____ Intervalo entreaios: _____ Número de gestações: _____ Abortos: _____
Dificuldade reprodutiva: _____ Pseudogestação: _____
Aplicação de anticoncepcional: () SIM () NÃO Qual? _____ Quantas vezes? _____ Histórico familiar de tumor de mama: _____
Histórico de mastite: _____ Histórico de mastectomia e/ou nodulectomia: _____ Exames radiográficos anteriores: () SIM () NÃO

ANAMNESE NUTRICIONAL

Tipo de alimento usado: _____ Qual ração utilizada? _____ Quantidade fornecida de ração ao dia: _____
Frequência de alimentação () 1x ao dia () 2x ao dia () 3x ao dia () Mais de 3 x ao dia Tipo de comida caseira oferecida: _____
Fornece petiscos ao animal (biscoitos, bifeinhos e etc): _____ Quais petiscos são fornecidos? _____ Frequência de fornecimento: _____
Qual a frequência de atividade física: () diariamente () semanalmente () 3x por semana () Outro: _____
Tipo de atividade física (caminhadas, corridas, natação e etc): _____ Existem outros animais em casa? Quantos e quais? _____
Como você alimenta seu cão? () Deixa o alimento a vontade na vasilha () Segue as instruções do rótulo () Fornece o alimento e retira após alguns minutos
Está usando algum tipo de suplementação nutricional? Qual? _____
Faz uso de produtos a base de Ácido Ascórbico (Vitamina C)? () SIM () NÃO
Se sim, usa desde quando? _____

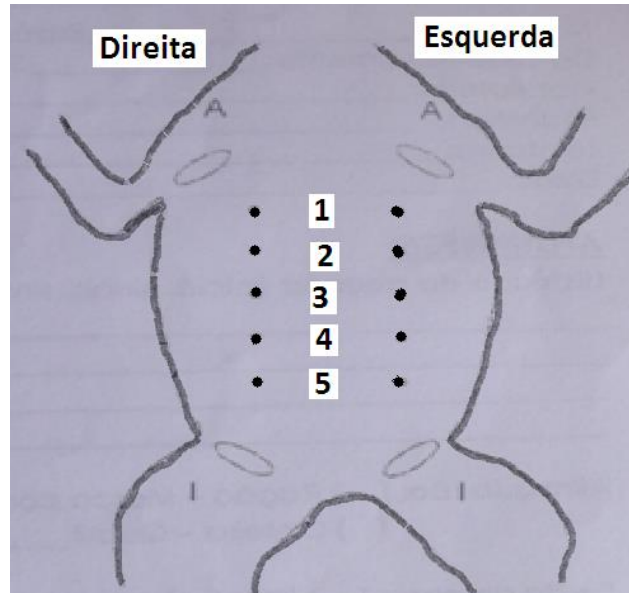
EXAME FÍSICO GERAL

Horário do exame: _____ Estado de hidratação: _____ TPC: _____ Frequência cardíaca: _____
Temperatura corpórea: _____ Mucosas aparentes: _____ Frequência respiratória: _____

Aparência geral: _____ Atitude: _____ Comportamento: _____

CARACTERÍSTICA FÍSICA DO TUMOR

Mobilidade (+/-): _____ Ulceração (+/-): _____ Eritema (+/-): _____ Aderência da pele (+/-): _____
Infecção (+/-): _____ Envolvimento de fáscia ou músculo (+/-): _____ Dor local (+/-): _____



Escore de condição corporal (ECC) de 1 a 9 = _____ Estatura (articulação atlanto occipital até o chão) = _____ IMCC = _____

Circunferência pélvica (CP) = _____ Comprimento da tuberosidade do calcâneo até o ligamento patelar médio (CR) = _____

% GC = _____ Triglicérides: _____ Colesterol: _____

Glicose: _____ Frutosamina: _____ Leptina: _____

9.2. APÊNDICE 2: Ficha clínica dos grupos G1 e G3

FICHA CLÍNICA - CADELAS SEM TUMOR MAMÁRIO

Nome: _____ Raça: _____ Pelagem: _____ Data de Nascimento: _____
Proprietário: _____ Endereço: _____
Telefone (s): _____ e-mail: _____
Peso (Kg): _____

Está de jejum () SIM () NÃO Quanto tempo? _____

ANAMNESE NUTRICIONAL

Tipo de alimento usado: _____ Qual ração utilizada? _____ Quantidade fornecida de ração ao dia: _____
Frequência de alimentação () 1x ao dia () 2x ao dia () 3x ao dia () Mais de 3 x ao dia Tipo de comida caseira oferecida: _____
Fornece petiscos ao animal (biscoitos, bifeinhos e etc): _____ Quais petiscos são fornecidos? _____ Frequência de fornecimento: _____
Qual a frequência de atividade física: () diariamente () semanalmente () 3x por semana () Outro: _____
Tipo de atividade física (caminhadas, corridas, natação e etc): _____ Existem outros animais em casa? Quantos e quais? _____
Como você alimenta seu cão? () Deixa o alimento a vontade na vasilha () Segue as instruções do rótulo () Fornece o alimento e retira após alguns minutos
Está usando algum tipo de suplementação nutricional? Qual? _____
Faz uso de produtos a base de Ácido Ascórbico (Vitamina C)? () SIM () NÃO
Se sim, usa desde quando? _____

EXAME FÍSICO GERAL

Horário do exame: _____ Estado de hidratação: _____ TPC: _____ Frequência cardíaca: _____
Temperatura corpórea: _____ Mucosas aparentes: _____ Frequência respiratória: _____

Aparência geral: _____ Atitude: _____ Comportamento: _____

Escore de condição corporal (ECC) de 1 a 9 = _____ Estatura (articulação atlanto occipital até o chão) = _____ IMCC = _____

Circunferência pélvica (CP) = _____ Comprimento da tuberosidade do calcâneo até o ligamento patelar médio (CR) = _____

% GC = _____ Triglicérides: _____ Colesterol: _____

Glicose: _____ Frutosamina: _____ Leptina: _____

9.3. APÊNDICE 3: Termo de consentimento (G2 e G4).

Título da Pesquisa: _____

Nome do (a) Pesquisador (a) Responsável: _____

Instituição: UnB – Universidade de Brasília **Telefone:** _____

Natureza da pesquisa: *o Sr. (sra.) está sendo convidada (o) a autorizar a participação de seu(s) animal(is) nesta pesquisa que tem como finalidade avaliar a predisposição de animais com sobrepeso ou obesos a desenvolverem neoplasias de mamas.*

Identificação do(s) animal(is): _____

Envolvimento na pesquisa: *ao participar deste estudo o Sr. (Sra.) permitirá ao (a) pesquisador (a) realizar o exame físico geral, punção venosa e biópsia da tumor. O Sr. (Sra.) tem a liberdade de se recusar a participar e ainda se recusar a continuar participando em qualquer fase da pesquisa, sem qualquer prejuízo para o seu animal. Sempre que quiser poderá pedir mais informações sobre a pesquisa através do telefone do (a) pesquisador e, se necessário, através do telefone da Comissão de Ética da Universidade de Brasília.*

Sobre os dados necessários: antes da punção venosa, o animal passará por exame físico e medições com auxílio de fita métrica para determinação de sua condição corporal. Serão coletados 4 ml de sangue para mensurações laboratoriais de triglicerídeos, colesterol, glicose, leptina e frutamina (exames esses realizados sem custos para o proprietário). O exame histopatológico será realizado após a retirada cirúrgica da neoplasia para assim obtermos a classificação do tipo tumoral envolvido.

Riscos e desconforto: *a participação nesta pesquisa não traz complicações legais. O animal poderá apresentar apenas desconfortos nos locais das punções. Os procedimentos adotados nesta pesquisa obedecem à Resolução 879, de 15 de fevereiro de 2008.e à Lei Federal 11794, de 08 de outubro de 2008.*

Confidencialidade: *os dados obtidos no trabalho serão posteriormente publicados, porém todas as informações referentes à identificação de proprietários e animais coletadas neste estudo são estritamente confidenciais e não serão utilizadas na publicação.*

Benefícios: *esperamos que neste estudo se obtenham informações importantes sobre envolvimento hormonal na formação tumoral e relações com score corporal, de forma que o conhecimento que será construído a partir desta pesquisa possa nos auxiliar em possíveis prevenções e tratamentos específicos, o pesquisador se compromete a divulgar os resultados obtidos.*

Pagamento: *o Sr. (Sra.) não terá nenhum tipo de despesa para participar desta pesquisa, bem como, nada será pago por sua participação.*

Após estes esclarecimentos, solicitamos o seu consentimento de forma livre para participar desta pesquisa. Tendo em vista os itens acima apresentados, eu, de forma livre e esclarecida, manifesto meu consentimento em participar da pesquisa.

Nome do Proprietário (CPF/RG): _____

Assinatura do Proprietário

Assinatura do pesquisador

Brasília, _____ de _____ de 20____.

9.4. APÊNDICE 4: Termo de consentimento (G1 e G3).

Título da Pesquisa: _____

Nome do (a) Pesquisador (a) Responsável: _____

Instituição: UnB – Universidade de Brasília **Telefone:** _____

Natureza da pesquisa: *o Sr. (sra.) está sendo convidada (o) a autorizar a participação de seu(s) animal(is) nesta pesquisa que tem como finalidade avaliar a predisposição de animais com sobrepeso ou obesos a desenvolverem neoplasias de mamas.*

Identificação do(s) animal(is): _____

Envolvimento na pesquisa: *ao participar deste estudo o Sr. (Sra.) permitirá ao (a) pesquisador (a) realizar o exame físico geral e punção venosa. O Sr. (Sra.) tem a liberdade de se recusar a participar e ainda se recusar a continuar participando em qualquer fase da pesquisa, sem qualquer prejuízo para o seu animal. Sempre que quiser poderá pedir mais informações sobre a pesquisa através do telefone do (a) pesquisador e, se necessário, através do telefone da Comissão de Ética da Universidade de Brasília.*

Sobre os dados necessários: *antes da punção venosa, o animal passará por exame físico e medições com auxílio de fita métrica para determinação de sua condição corporal. Serão coletados 4 ml de sangue para mensurações laboratoriais de triglicerídeos, colesterol, glicose, leptina e frutamina (exames esses realizados sem custos para o proprietário).*

Riscos e desconforto: *a participação nesta pesquisa não traz complicações legais. O animal poderá apresentar apenas desconfortos nos locais das punções. Os procedimentos adotados nesta pesquisa obedecem à Resolução 879, de 15 de fevereiro de 2008 e à Lei Federal 11794, de 08 de outubro de 2008.*

Confidencialidade: *os dados obtidos no trabalho serão posteriormente publicados, porém todas as informações referentes à identificação de proprietários e animais coletadas neste estudo são estritamente confidenciais e não serão utilizadas na publicação.*

Benefícios: *esperamos que neste estudo se obtenham informações importantes sobre envolvimento hormonal na formação tumoral e relações com escore corporal, de forma que o conhecimento que será construído a partir desta pesquisa possa nos auxiliar em possíveis prevenções e tratamentos específicos, o pesquisador se compromete a divulgar os resultados obtidos.*

Pagamento: *o Sr. (Sra.) não terá nenhum tipo de despesa para participar desta pesquisa, bem como, nada será pago por sua participação.*

Após estes esclarecimentos, solicitamos o seu consentimento de forma livre para participar desta pesquisa. Tendo em vista os itens acima apresentados, eu, de forma livre e esclarecida, manifesto meu consentimento em participar da pesquisa.

Nome do Proprietário (CPF/RG): _____

Assinatura do Proprietário

Assinatura do pesquisador

Brasília, _____ de _____ de 20____.

9.5. APÊNDICE 5: Idade, escore de condição corporal, peso vivo, medições biométricas, porcentagem de gordura corporal e índice de massa corporal canino dos animais dos grupos G1 e G2.

Tabela 3: Idade, escore de condição corporal, peso vivo, medições biométricas, porcentagem de gordura corporal e índice de massa corporal canino dos animais do grupo G1* e G2*.

| Animal | Idade | Idade | ECC* | ECC | PV* | PV | Estatura* | Estatura | CR* | CR | CP* | CP | %GC* | %GC | IMCC* | IMCC |
|----------|-------|-------|------|-----|------|------|-----------|----------|-----|------|-----|----|--------|-------|--------|--------|
| | G1 | G2 | G1 | G2 | G1 | G2 | G1 | G2 | G1 | G2 | G1 | G2 | G1 | G2 | G1 | G2 |
| A | 7 | 13 | 4/5 | 4/5 | 12,5 | 45 | 1 | 1,62 | 20 | 23 | 50 | 63 | 17,500 | 24,49 | 12,500 | 13,717 |
| B | 8 | 8 | 4/5 | 4/5 | 8,9 | 6,6 | 0,81 | 0,73 | 18 | 16 | 45 | 43 | 16,250 | 17,79 | 14,922 | 13,624 |
| C | 8 | 9 | 4/5 | 4/5 | 19 | 24,5 | 1,2 | 1,32 | 19 | 25 | 55 | 60 | 23,850 | 18,3 | 13,194 | 14,061 |
| D | 9 | 11 | 4/5 | 4/5 | 17 | 3 | 1,15 | 0,5 | 25 | 9 | 59 | 34 | 17,370 | 21,32 | 12,854 | 13,200 |
| E | 9 | 9 | 4/5 | 4/5 | 5,9 | 34,5 | 0,7 | 1,4 | 13 | 20 | 36 | 57 | 16,380 | 24,01 | 13,245 | 14,082 |
| F | 7 | 9 | 4/5 | 4/5 | 7,4 | 35 | 0,74 | 1,37 | 18 | 25 | 45 | 66 | 16,250 | 23,88 | 14,865 | 14,918 |
| G | 8 | 9 | 4/5 | 4/5 | 5 | 5,5 | 0,65 | 0,66 | 12 | 10,5 | 35 | 38 | 17,150 | 22,49 | 13,018 | 13,889 |
| H | 8 | 9 | 4/5 | 4/5 | 19,9 | 27,7 | 1,15 | 1,3 | 18 | 24 | 53 | 60 | 23,690 | 20 | 15,047 | 13,112 |
| I | 10 | 7 | 4/5 | 4/5 | 19,3 | 28,5 | 1,2 | 1,3 | 23 | 19 | 54 | 55 | 16,120 | 23,85 | 13,403 | 13,491 |

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|------------------|------|------|-----|-----|------|-------|------|------|-------|-------|-------|-------|--------|-------|--------|--------|
| J | 9 | 8 | 4/5 | 4/5 | 5,1 | 33 | 0,68 | 1,38 | 14 | 25 | 40 | 67 | 18,400 | 24,81 | 12,132 | 13,863 |
| L | 6 | 8 | 4/5 | 4/5 | 10 | 4,5 | 0,85 | 0,62 | 15 | 11 | 41 | 36 | 17,630 | 19,78 | 13,841 | 12,877 |
| M | 6 | 16 | 4/5 | 4/5 | 2,5 | 4,85 | 0,46 | 0,64 | 8 | 11 | 26 | 33 | 15,58 | 16,99 | 12,996 | 13,025 |
| N | 7 | 7 | 4/5 | 4/5 | 5,5 | 25,6 | 0,69 | 1,19 | 12 | 20 | 34 | 54 | 16,22 | 21,22 | 12,707 | 14,462 |
| O | 7 | 10 | 4/5 | 4/5 | 4 | 8,15 | 0,55 | 0,79 | 8 | 12 | 28 | 43 | 17,44 | 24,59 | 14,545 | 14,365 |
| P | 9 | 12 | 4/5 | 4/5 | 5,3 | 2,24 | 0,67 | 0,44 | 10,4 | 9 | 35 | 29 | 19,87 | 16,67 | 12,987 | 12,727 |
| Média | 7,87 | 9,67 | 4,5 | 4,5 | 9,82 | 19,24 | 0,83 | 1,02 | 15,56 | 17,30 | 42,40 | 49,2 | 17,98 | 21,35 | 13,48 | 13,69 |
| Desvio padrão | 1,19 | 2,44 | 0,0 | 0,0 | 6,14 | 14,66 | 0,25 | 0,40 | 5,14 | 6,36 | 10,20 | 13,14 | 2,58 | 2,93 | 0,94 | 0,63 |

* G1: cães com escore corporal normal sem tumor de mama; G2: cães acima do peso com tumor de mama; ECC: escore de condição corporal; PV: Peso vivo; Estatura em metros; CR: longitude do membro posterior direito desde a tuberosidade calcânea até a metade do ligamento patelar em centímetros; CP: circunferência pélvica em centímetros; GC: gordura corporal e IMCC: índice de massa corporal canino.

9.6. APÊNDICE 6: Idade, escore de condição corporal, peso vivo, medições biométricas, porcentagem de gordura corporal e índice de massa corporal canino dos animais dos grupos G3 e G4.

Tabela 4: Idade, escore de condição corporal, peso vivo, medições biométricas, porcentagem de gordura corporal e índice de massa corporal canino dos animais do grupo G3* e G4*.

| Animal | Idade | Idade | ECC* | ECC | PV* | PV | Estatura* | Estatura | CR* | CR | CP* | CP | %GC* | %GC | IMCC* | IMCC |
|----------|-------|-------|------|-----|------|------|-----------|----------|-----|----|-----|------|-------|--------|--------|--------|
| | G3 | G4 | G3 | G4 | G3 | G4 | G3 | G4 | G3 | G4 | G3 | G4 | G3 | G4 | G3 | G4 |
| A | 6 | 8 | 7 | 8 | 12 | 3,84 | 0,84 | 0,47 | 12 | 7 | 54 | 36 | 34,82 | 26,58 | 17,007 | 19,122 |
| B | 7 | 9 | 8 | 8 | 23,1 | 8,95 | 1,01 | 0,68 | 16 | 14 | 68 | 49 | 41,04 | 26,77 | 22,645 | 21,291 |
| C | 8 | 7 | 8 | 8 | 22,6 | 9,5 | 1 | 0,68 | 15 | 14 | 70 | 52 | 44,6 | 29,56 | 22,600 | 22,599 |
| D | 9 | 10 | 8 | 6 | 20,6 | 6,2 | 1,04 | 0,65 | 19 | 11 | 59 | 43 | 27,57 | 26,29 | 19,046 | 16,142 |
| E | 7 | 8 | 9 | 7 | 25,4 | 6,45 | 0,96 | 0,64 | 15 | 10 | 69 | 41 | 43,67 | 26,13 | 22,049 | 17,322 |
| F | 7 | 11 | 8 | 7 | 34,1 | 9,45 | 1,24 | 0,77 | 22 | 15 | 63 | 59 | 26,19 | 34,37 | 17,742 | 17,532 |
| G | 8 | 10 | 9 | 7 | 31,1 | 4,77 | 0,98 | 0,55 | 16 | 9 | 71 | 40,3 | 43,83 | 27,179 | 25,906 | 17,345 |
| H | 9 | 10 | 8 | 8 | 34,1 | 8,85 | 1,17 | 0,71 | 18 | 9 | 76 | 45 | 45,08 | 31,55 | 19,928 | 19,312 |

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---------------|------|------|------|------|-------|-------|------|------|-------|-------|------|-------|-------|-------|--------|--------|
| I | 7 | 10 | 8 | 7 | 16 | 8,3 | 0,85 | 0,72 | 21 | 13 | 65 | 48 | 29,75 | 27,54 | 22,145 | 17,612 |
| J | 7 | 8 | 8 | 7 | 14 | 7,85 | 0,83 | 0,69 | 14 | 11 | 50 | 44 | 27,7 | 27,22 | 20,322 | 18,137 |
| L | 9 | 11 | 7 | 7 | 13 | 6 | 0,86 | 0,59 | 12 | 8,4 | 53 | 39 | 33,89 | 26,99 | 17,577 | 18,960 |
| M | 8 | 8 | 8 | 7 | 13,7 | 15,5 | 0,76 | 0,91 | 14 | 14 | 49 | 50 | 26,77 | 27,7 | 23,719 | 18,718 |
| N | 9 | 11 | 6 | 8 | 11,8 | 16,25 | 0,84 | 0,95 | 13 | 16 | 51 | 60 | 30,33 | 33,6 | 16,723 | 18,006 |
| O | 7 | 15 | 6 | 8 | 12,8 | 19,45 | 0,91 | 0,93 | 14 | 14 | 52 | 68 | 29,56 | 44,44 | 15,457 | 22,488 |
| P | 9 | 11 | 7 | 7 | 10,9 | 35,5 | 0,8 | 1,2 | 13 | 21 | 50 | 66 | 29,4 | 30,68 | 17,031 | 19,722 |
| Média | 7,8 | 9,80 | 7,67 | 7,33 | 19,68 | 11,12 | 0,94 | 0,74 | 15,60 | 12,43 | 60,0 | 49,35 | 34,28 | 29,77 | 19,99 | 18,95 |
| Desvio padrão | 1,01 | 1,97 | 0,90 | 0,62 | 8,33 | 8,06 | 0,14 | 0,19 | 3,11 | 3,61 | 9,29 | 9,88 | 7,28 | 4,85 | 3,08 | 1,90 |

*G3: cães acima do peso sem tumor de mama; G4: cães acima do peso com tumor de mama; ECC: escore de condição corporal; PV: Peso vivo; Estatura em metros; CR: longitude do membro posterior direito desde a tuberosidade calcânea até a metade do ligamento patelar em centímetros; CP: circunferência pélvica em centímetros; GC: gordura corporal e IMCC: índice de massa corporal canino.

9.7. APÊNDICE 7: Valores séricos de triglicérides e colesterol

Tabela 5: Valores séricos individuais de triglicerídeos e colesterol dos grupos G1*, G2*, G3* e G4*.

| Animal | TG* | COL* | TG | COL | TG | COL | TG | COL |
|----------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| | Grupo G1 | Grupo G1 | Grupo G2 | Grupo G2 | Grupo G3 | Grupo G3 | Grupo G4 | Grupo G4 |
| A | 52 | 148 | 82 | 81 | 336 | 332 | 350 | 438 |
| B | 54 | 230 | 76 | 115 | 143 | 365 | 430 | 267 |
| C | 69 | 120 | 105 | 226 | 302 | 354 | 379 | 269 |
| D | 78 | 80 | 65 | 95 | 250 | 396 | 342 | 331 |
| E | 92 | 90 | 62 | 201 | 293 | 337 | 561 | 347 |
| F | 98 | 71 | 59 | 86 | 250 | 452 | 185 | 321 |
| G | 36 | 166 | 65 | 119 | 471 | 264 | 201 | 514 |
| H | 87 | 194 | 69 | 165 | 312 | 371 | 208 | 283 |
| I | 56 | 193 | 98 | 148 | 540 | 347 | 524 | 262 |
| J | 96 | 127 | 96 | 110 | 152 | 401 | 235 | 264 |
| L | 52 | 200 | 56 | 189 | 292 | 283 | 145 | 364 |
| M | 64 | 112 | 75 | 93 | 511 | 299 | 171 | 481 |
| N | 84 | 105 | 70 | 123 | 220 | 412 | 285 | 397 |
| O | 68 | 224 | 73 | 223 | 212 | 495 | 324 | 504 |
| P | 96 | 119 | 71 | 192 | 340 | 557 | 446 | 353 |
| Média | 72,13 | 145,27 | 74,80 | 144,40 | 308,27 | 377,67 | 319,07 | 359,47 |
| Desvio padrão | 19,64 | 52,57 | 14,61 | 50,99 | 119,28 | 78,84 | 130,59 | 89,20 |

*G1: cães com escore corporal normal sem tumor de mama; G2: cães com escore corporal normal com tumor de mama; G3: cães acima do peso sem tumor de mama e G4: cães acima do peso com tumor de mama; TG: valores séricos de triglicérideo em mg/dl; COL: valores séricos de colesterol em mg/dl.

9.8. APÊNDICE 8: valores séricos de glicose e frutossamina

Tabela 6: Valores séricos individuais glicose e frutossamina dos grupos G1*, G2*, G3* e G4*.

| Animal | GLI | FRU | GLI | FRU | GLI | FRU | GLI | FRU |
|----------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| | Grupo G1 | Grupo G1 | Grupo G2 | Grupo G2 | Grupo G3 | Grupo G3 | Grupo G4 | Grupo G4 |
| A | 89 | 287 | 109 | 323 | 166 | 443 | 356 | 440 |
| B | 71 | 294 | 118 | 358 | 239 | 335 | 268 | 306 |
| C | 106 | 295 | 116 | 318 | 259 | 310 | 156 | 465 |
| D | 100 | 247 | 81 | 302 | 166 | 433 | 110 | 336 |
| E | 75 | 274 | 85 | 330 | 190 | 287 | 198 | 353 |
| F | 92 | 246 | 84 | 306 | 210 | 389 | 260 | 458 |
| G | 71 | 315 | 91 | 262 | 120 | 378 | 230 | 344 |
| H | 72 | 307 | 87 | 303 | 260 | 333 | 434 | 471 |
| I | 98 | 354 | 106 | 363 | 189 | 449 | 325 | 466 |
| J | 86 | 337 | 111 | 234 | 180 | 270 | 125 | 308 |
| L | 115 | 309 | 96 | 298 | 365 | 458 | 254 | 385 |
| M | 101 | 238 | 94 | 350 | 150 | 463 | 310 | 470 |
| N | 93 | 264 | 108 | 359 | 223 | 389 | 214 | 374 |
| O | 86 | 249 | 99 | 237 | 131 | 235 | 265 | 451 |
| P | 84 | 328 | 96 | 263 | 296 | 403 | 185 | 372 |
| Média | 89,27 | 289,60 | 98,73 | 307,07 | 209,60 | 371,67 | 246,00 | 399,93 |
| Desvio padrão | 13,39 | 36,03 | 12,01 | 42,69 | 65,95 | 73,23 | 87,60 | 62,40 |

*G1: cães com escore corporal normal sem tumor de mama; G2: cães com escore corporal normal com tumor de mama; G3: cães acima do peso sem tumor de mama; G4: cães acima do peso com tumor de mama; GLI: valores séricos de glicose em mg/dl e FRU: valores séricos de frutossamina em µmol/l.

9.9. APÊNDICE 9: Valores séricos de Leptina (ng/ml)

Tabela 7: Valores séricos individuais de leptina em ng/ml do grupo G1*, G2*, G3* e G4*.

| Animal | Grupo G1 | Grupo G2 | Grupo G3 | Grupo G4 |
|---------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| A | 1,7405 | 1,943 | 3,036 | 4,3645 |
| B | 1,304 | 1,261 | 3,71 | 5,915 |
| C | 2,235 | 1,5035 | 4,278 | 11,338 |
| D | 1,634 | 1,642 | 2,596 | 4,054 |
| E | 1,3775 | 2,243 | 4,178 | 4,176 |
| F | 1,2395 | 1,9375 | 2,536 | 14,095 |
| G | 1,427 | 1,711 | 4,105 | 7,2045 |
| H | 2,148 | 1,607 | 6,858 | 12,385 |
| I | 1,2375 | 1,821 | 2,823 | 13,517 |
| J | 1,911 | 2,395 | 3,71 | 7,843 |
| L | 1,904 | 1,578 | 2,855 | 4,054 |
| M | 0,962 | 1,096 | 2,593 | 6,7475 |
| N | 1,1615 | 1,9375 | 2,924 | 13,517 |
| O | 1,655 | 2,395 | 2,7845 | 14,143 |
| P | 1,989 | 0,9185 | 2,7575 | 12,864 |
| Média | 1,60 ± 0,39 | 1,73 ± 0,44 | 3,45 ± 1,13 | 9,08 ± 4,12 |

*G1: cães com escore corporal normal sem tumor de mama; G2: cães com escore corporal normal com tumor de mama; G3: cães acima do peso sem tumor de mama e G4: cães acima do peso com tumor de mama.