

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
(PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS)

TESE

**Obesidade, Desregulação Insulínica e Lipidemia Mista em Equinos da Raça
Mangalarga Marchador**

Erica Bertha Fuhrich Raupp Bezerra de Mello

2016



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
(PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS)**

**OBESIDADE, DESREGULAÇÃO INSULÍNICA E LIPIDEMIA MISTA
EM EQUINOS DA RAÇA MANGALARGA MARCHADOR**

ERICA BERTHA FUHRICH RAUPP BEZERRA DE MELLO

Sob a orientação do Professor
Paulo de Tarso Landgraf Botteon

e Co-orientação da Professora
Tanja Maria Hess

Tese submetida como requisito para
obtenção do grau de **Doutor em
Ciências**, no Programa de Pós-
Graduação em Medicina Veterinária,
Área de Concentração em Ciências
Clínicas.

Seropédica, RJ
Outubro de 2016

636.1
M527o
T

Mello, Erica Bertha Fuhrich Raupp Bezerra de,
1982-
Obesidade, desregulação insulínica e
lipidemia mista em equinos da raça mangalarga
marchador / Erica Bertha Fuhrich Raupp
Bezerra de Mello - 2016.
87 f.: il.

Orientador: Paulo de Tarso Landgraf
Botteon.

Tese (doutorado) - Universidade Federal
Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós-
Graduação em Medicina Veterinária - Patologia
e Ciências Clínicas.
Inclui bibliografias.

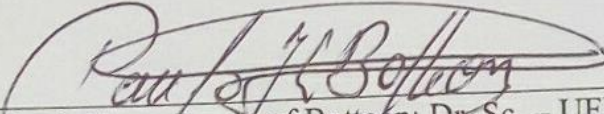
1. Equino - Doenças - Teses. 2. Equino -
Teses. 3. Resistência à insulina - Teses. 4.
Síndrome metabólica - Teses. 5. Obesidade -
Teses. I. Botteon, Paulo de Tarso Landgraf,
1964-. II. Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em
Medicina Veterinária - Patologia e Ciências
Clínicas. III. Título.

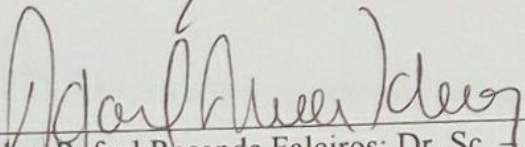
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
(PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS)

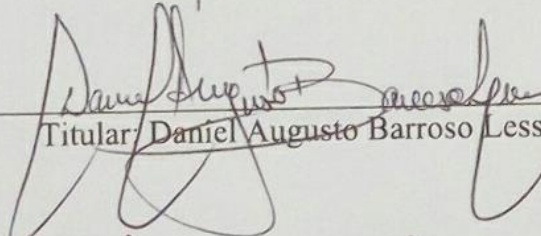
ERICA BERTHA FUHRICH RAUPP BEZERRA DE MELLO

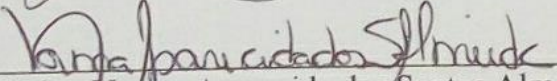
Tese submetida como requisito para obtenção do grau de Doutor em Ciências, no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, na área de Concentração em Ciências Clínicas.

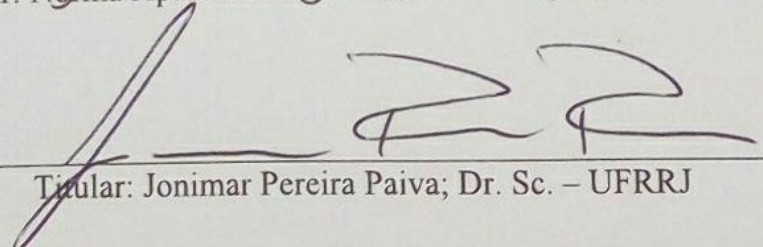
APROVADA EM 25/10/2016


Presidente: Paulo de Tarso Landgraf Botteon; Dr. Sc. – UFRRJ


Titular: Rafael Resende Faleiros; Dr. Sc. – UFMG


Titular: Daniel Augusto Barroso Lessa; Dr. Sc. – UFF


Titular: Norma Aparecida dos Santos Almeida; Dr. Sc. – UFRRJ


Titular: Jonimar Pereira Paiva; Dr. Sc. – UFRRJ

Para meu Thomthom, que sacudiu meu mundo, me fez rever conceitos e repensar futuro. Imensamente agradecida pela sua chegada à minha vida. Não sou a mesma pessoa depois daquele 11 de agosto.

AGRADECIMENTOS

Às forças regentes do universo. Não há nada que aconteça sem um motivo ou porquê.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, que desde 2002 é meu “home away from home”. Devo a esta casa toda minha formação acadêmica, desde a iniciação científica até ao doutoramento.

A Marcio Araújo de Oliveira. Sem você como meu “parceiro de crime” nada disso seria possível e a vida seria bem mais chata e vazia.

Ao Prof. Dr. Paulo de Tarso Landgraf Botteon, que há alguns anos me deu a chance do sim e com isso a chance de chegar até aqui. E que me ajudou a acreditar que a equipe estaria “ganhando uma mãe e não perdendo uma cientista”.

À Prof^a. Dr^a. Tanja Maria Hess, que além de co-orientadora e amiga, foi meu maior exemplo de que é possível conciliar maternidade com pesquisa, por mais que isso se pareça muito difícil, por vezes.

A Marlene Raupp e Luiz Moura Bezerra de Mello. Muito da construção de quem sou hoje se deve a vocês.

A Inês Prado de Araújo Oliveira e Marcelo Leon de Oliveira. Sem a ajuda de vocês com nosso pequeno, teria sido bem mais difícil.

À minha equipe de trabalho e de vida. Bruno Spíndola, Gabriela Oliveira, Bruno Souza, Thayse Lima, Bruna Patrícia, Ana Paula Lopes Marques, Janne Paula, Bianca Pachiell, Isabella Manes, Cristiano Oliveira, Bruno “Sequela”, Simone Calado, Eliene Sad, Fabricia Matioli, João Emídio, Renato Drummond. Vocês são a melhor equipe de tios e tias que eu poderia ter pedido.

A Anne Marie Yasui, pelas noites no laboratório e grãos de mostarda nas orelhas. Todas as gargalhadas estão guardadas na memória.

Às moças que compartilharam o espaço do Alojamento Feminino da Pós-Graduação. A convivência, nem sempre pacífica, nesse lugar de pouso foi de suma importância para chegar aqui, hoje.

A Carla Zuquetto, Billa Nunes, Nadia Oshima, Milene Missau e Elis Theodoro. Vocês são um presente que a maternidade me trouxe.

A Rodrigo Ferreira, meu “brother from another mother”. Não sei te dizer o quanto você foi importante no apoio e nas seguradas de barra.

Ao grupo Minas Nerds, por tantas falas de apoio e acolhimento em momentos críticos.

A Tatiane Godoi, Erica Roier, Paula Cardoso, Sérgio Rosalvo, Cíntia Santos e Gustavo Gomes e todos os demais responsáveis pelos centros de criação onde executamos o trabalho. A confiança de vocês em ceder o contato aos animais fez com que esse projeto se tornasse realidade.

À equipe do LQEPV e do laboratório de Biofísica do DCF, pelo apoio à execução de procedimentos relacionados a este trabalho.

E a todos que são importantes, mas que infelizmente a memória me pregou uma peça e acabei esquecendo-me de citar.

Muito obrigada

RESUMO

A proposta deste estudo foi avaliar a ocorrência de sobrepeso e obesidade em cavalos da raça Mangalarga Marchador e se o quadro contribui para a ocorrência de alterações no mecanismo de sensibilidade à insulina e comorbidades na raça. Foram realizados três estudos distintos para essa avaliação. No primeiro, animais foram selecionados a fim de detectar a influência dos fatores sexo, escore corporal (EC), faixa etária e sistema de criação em variáveis fenotípicas relacionadas à obesidade e à sensibilidade à insulina e secreção β -pancreática, onde foi observado que há influência de aspectos inatos e de manejo sobre a função insulínica. No segundo, dois grupos (n=6), sendo um com EC ideal e outro acima do ideal, foram submetidos a um teste dinâmico de tolerância à glicose (combined glucose-insulin test – CGIT), determinação de sensibilidade à insulina e secreção β -pancreática a partir de cálculo de modelos matemáticos (RISQI e MIRG), um teste de estado oxidativo e concentração do fator de necrose tumoral- α (TNF- α), sendo encontrado impacto do EC na secreção β -pancreática. No terceiro, foram colhidos dados de três grupos distintos (n=6), cada um de uma categoria de EC (ideal, sobrepeso e obeso), do lipidograma (triglicerídeos e colesterol total) e sensibilidade à insulina e secreção β -pancreática (RISQI e MIRG), onde foi observado impacto do EC no lipidograma e na secreção β -pancreática. Nos três experimentos observou-se que o escore corporal influenciou as variáveis relacionadas diretamente ou indiretamente com a sensibilidade à insulina. A condição de escore corporal altera a dinâmica fisiológica de sensibilidade à insulina em cavalos da raça Mangalarga Marchador.

Palavras chave: equino, escore corporal, resistência à insulina, adiposidade, Síndrome Metabólica Equina

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate whether overweight and obesity in Mangalarga Marchador breed, contributing in the occurrence of changes in insulin sensitivity mechanism and comorbidities. Three studies were performed for this evaluation. In the first, animals were selected to detect the influence of innate factors such as sex, body condition score (BCS), age, and housing system in phenotypic variables related to obesity and insulin sensitivity, where was found the influence of innate and mannagent aspects influenced insulin function. In the second study, two groups of mares (n=6) were subjected to combined glucose-insulin test (CGIT), basal proxies of insulin sensitivity and β -pancreatic secretion (RISQI and MIRG), thiobarbituric acid reactive subproducts assay (TBARS/MDA) and tumoral necrosis factor- α concentration determined (TNF- α), where was found the influence os BCS in β -pancreatic secretion (MIRG). In the third study, three groups of mares (n=6) each one from different categories for BCS (moderate, overweight, and obese) has their blood tested for plasma lipids (triglycerides and total cholesterol), basal glucose and insulin concentration, and proxies for insulin sensitivity (RISQI and MIRG) calculated, where was found influence of BCS in plasma lipids and in β -pancreatic secretion. Directly and indirectly relates insulin sensitivity parameters were influenced by BCS during all three experiments. BCS impacts insulin sensitivity parameters in Mangalarga Marchador breed.

Keywords: horse, body condition score, insulin resistance, adiposity, Equine Metabolic Syndrome

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Pontos de deposição de tecido gorduroso comum a equinos machos e fêmeas. A= bordo dorsal do pescoço, B= cernelha, C= dorso-lombo; D= inserção da cauda; E= costado; F= região caudal à palheta (Fonte: http://www.equisearch.com/premium/body-condition-scoring-horse-30678).....	9
Figura 2: Guia para avaliação de escore de pescoço (CARTER et al., 2009a).	11
Figura 3: Esquema de vista lateral da região da garupa em membro pélvico de equino (adaptado de Schaller, 1999). A seta indica local de posicionamento do transdutor para realização do exame ultrassonográfico para mensuração da espessura de camada de tecido adiposo na região utilizado na técnica de Westervelt et al., 1976	12
Figura 4: Distribuição de acordo com sexo, faixa etária, faixas de escore corporal e sistema de criação. Dados referentes a amostra encontram-se expressos em porcentagem.....	20
Figura 5: Medianas do escore corporal dos grupos avaliados no estudo. Coluna assinalada com (*) foi significativamente superior.....	53
Figura 6: Médias e desvio padrão dos valores de glicemia obtidos das dinâmicas dos dois grupos durante o teste de glicose-insulina combinada (CGIT). Não houve diferença entre grupos.	54
Figura 7: Função logarítmica das médias e desvio padrão dos valores de concentração de insulina plasmática obtidos das dinâmicas dos dois grupos durante o teste de glicose-insulina combinada (CGIT). A concentração de insulina do Grupo 2 no momento T45 foi superior à observada no Grupos 1.	54
Figura 8: Medianas do escore corporal observado nos grupos. Colunas assinaladas com mesma letra não diferiram estatisticamente no teste de Dunn ao nível de significância de 5%.	75

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Descrição de escore corporal (EC). Adaptado de Henneke et al. (1983).....	10
Quadro 2: Descrição de escore de pescoço. Adaptado de Carter et al. (2009a).....	11
Quadro 5: Número total de animais e de animais avaliados de cada propriedade	16
Quadro 3 - Valores referenciais dos quintis de RISQI e MIRG (adaptado de Treiber et al., 2005).....	44
Quadro 4: Alterações fisiopatológicas relacionadas com o peroxinitrito no distúrbio vascular (adaptado de Szabó, 2009).....	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Médias e desvios padrão de variáveis com distribuição normal, medianas e amplitudes de valores categóricos e variáveis com distribuição não-normal de acordo com sexo dos animais. Houve influência do sexo nos parâmetros escore corporal (EC), escore de pescoço (EP) e glicemia de jejum (GLC).	21
Tabela 2: Médias e desvios padrão de variáveis com distribuição normal e medianas e amplitudes de valores categóricos e variáveis com distribuição não-normal de acordo com a faixa de escore corporal dos animais. Houve influência do escore corporal (EC) nos parâmetros escore de pescoço (EP), porcentagem de gordura (% _{gord}), concentração de insulina de jejum (INS), sensibilidade à insulina (RISQI), resposta β-pancreática (MIRG) e na alocação em quintis dos dados de RISQI e MIRG.	22
Tabela 3: Médias e desvio padrão de variáveis com distribuição normal e medianas e amplitudes de valores categóricos e variáveis com distribuição não-normal de acordo com a faixa etária dos animais. Houve influência da faixa etária nos parâmetros porcentagem de gordura (% _{gord}), glicemia de jejum (GLC) e secreção β-pancreática (MIRG).	23
Tabela 4: Médias e desvios padrão de variáveis com distribuição normal e medianas e amplitudes de valores categóricos e variáveis com distribuição não-normal de acordo com o sistema de criação dos animais. Houve influência do sistema de criação nos parâmetros escore corporal (EC), escore de pescoço (EP), porcentagem de gordura (% _{gord}), concentração de insulina de jejum (INS), sensibilidade à insulina (RISQI), resposta β-pancreática (MIRG) e na alocação dos dados em quintis de RISQI e MIRG.	24
Tabela 5: Médias e desvio padrão dos valores de glicemia e da insulinemia obtidos durante o teste de glicose-insulina combinada. Não houve diferença entre a média das glicemias entre os grupos. A concentração de insulina do Grupo 2 no momento T45 foi superior à observada no Grupos 1.	55
Tabela 6: Médias e desvios padrão dos dados normais, medianas e amplitudes de dados não-normais observadas no estudo. Houve influência do escore corporal (EC) na secreção β-pancreática.	56
Tabela 7: Média e desvio padrão dos valores de colesterol, glicemia, triglicérides, concentração de insulina e <i>proxies</i> calculadas RISQI e MIRG e mediana e amplitude de valores observados no estudo. Houve influência do escore EC nos parâmetros triglicérides (TG), colesterol total (COL), secreção β-pancreática (MIRG) e alocação dos dados de MIRG em quintil (QUINT _{MIRG}).....	76

LISTA DE ABREVIACÕES E SÍMBOLOS

EC: escore corporal
EP: escore de pescoço
TAB: tecido adiposo branco
TAM: tecido adiposo marrom
FSIGT: frequently sampled intravenous glucose tolerance
CGIT: combined glucose-insulin test
RISQI: reciprocal of the square root of insulin
MIRG: modified insulin-to-glucose ratio
IL-6: Interleucina-6
Ob-R: receptor de leptina
AMPK: adenosina monofosfato quinase
GLUT-4: receptor de glicose do tipo 4
TNF- α : fator de necrose tumoral α
IL-10: Interleucina-10
IL-12: interleucina-12
NO-s: óxido nítrico-sintase
NO: óxido nítrico
IP3K: inositol trifosfato quinase
NOx: subprodutos de nitração
SME: síndrome metabólica equina
SMet: síndrome metabólica humana
MM: Mangalarga Marchador
TBARS: subprodutos de reação ao ácido tiobarbitúrico
TG: triglicerídeos
CNE: carboidratos não estruturais
C3: gramíneas de clima temperado
C4: gramíneas de clima tropical

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	1
CAPÍTULO I.....	2
OCORRÊNCIA DE OBESIDADE E RESISTÊNCIA À INSULINA EM CAVALOS DA RAÇA MANGALARGA MARCHADOR	2
RESUMO	3
ABSTRACT	4
1. INTRODUÇÃO	5
2. REVISÃO DE LITERATURA	7
2.1. O Cavalo Doméstico: Aspectos Espécie-Específicos de Relevância ao Manejo	7
2.2. Obesidade	7
2.3. Ambiente vs Genética.....	8
2.4. Métodos de Avaliação de Adiposidade em Equinos	8
2.4.1. Escala de escore corporal (EC).....	8
2.4.2. Escala de Escore de Pescoço.....	9
2.4.3. Estimativa de porcentagem de gordura.....	12
2.5. Síndrome Metabólica Equina (SME)	12
2.6. Recomendações para o Combate à Síndrome Metabólica Equina	14
2.6.1. Manejo dietético: substituição de parte do carboidrato por gordura vegetal	14
2.6.2. Manejo de exercícios: inserção de programas na rotina dos animais	14
2.6.3. Manejo medicamentoso: uso de fármacos	15
3. MATERIAL E MÉTODOS	16
3.1. Animais e Critério de Amostragem.....	16
3.2. Critérios de Inclusão.....	16
3.3. Escore de Condição Corporal e Escore de Pescoço	17
3.4. Porcentagem de Gordura	17
3.5. Amostras sanguíneas	17
3.6. Determinação de Glicemia, Concentração de Insulina Plasmática e Cálculo de Proxies de Sensibilidade à Insulina	17
3.7. Análise Estatística	18
3.7.1. Agrupamento de dados	18
3.7.1.1. Sexo.....	18
3.7.1.2. Faixa etária	19
3.7.1.3. Categorias de escore corporal	19
3.7.1.4. Sistema de criação.....	19
3.7.2. Procedimentos Estatísticos	19

4. RESULTADOS.....	20
5. DISCUSSÃO.....	25
6. CONCLUSÕES.....	29
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30
CAPÍTULO II.....	38
INFLUÊNCIA DO SOBREPESO EM DOIS TESTES DE SENSIBILIDADE À INSULINA, CONCENTRAÇÃO DE FATOR DE NECROSE TUMORAL- α E SUBPRODUTOS DA REAÇÃO DO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO EM ÉGUAS MANGALARGA MARCHADOR	38
RESUMO	39
ABSTRACT	40
1. INTRODUÇÃO	41
2. REVISÃO DE LITERATURA	42
2.1. Avaliação do Metabolismo da Insulina	42
2.2. Testes da função insulínica.....	42
2.2.1. Teste intravenoso de tolerância à glicose com coletas frequentes (FSIGT).....	42
2.2.2. Teste combinado de glicose e insulina (CGIT).....	43
2.2.3. Proxies basais de sensibilidade à insulina (RISQI e MIRG)	43
2.3. Insulina e Óxido Nítrico (NO).....	44
2.4. Tecido Adiposo e Inflamação.....	45
2.5. Espécies Reativas	45
2.5.1. Espécies reativas de Oxigênio (ERO).....	46
2.5.2. Espécies reativas de Nitrogênio (ERN)	46
2.6. Disfunção Endotelial	47
2.7. Laminite.....	47
3. MATERIAL E MÉTODOS	50
3.1. Animais e Critérios de Amostragem	50
3.2. Amostras.....	50
3.3. Teste Combinado de Glicose e Insulina (CGIT)	50
3.4. <i>Proxies</i> Basais de Sensibilidade à Insulina	51
3.5. Subprodutos de Reação ao Ácido Tiobarbitúrico/Malondialdeído (TBARS/MDA) ...	52
3.6. Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- α)	52
3.7. Análise Estatística	52
4. RESULTADOS	53
5. DISCUSSÃO.....	57
6. CONCLUSÃO	59
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60

CAPÍTULO III	65
INFLUÊNCIA DA CONDIÇÃO CORPORAL SOBRE LIPIDOGRAMA E SENSIBILIDADE À INSULINA EM ÉGUAS MANGALARGA MARCHADOR	65
RESUMO	66
ABSTRACT	67
1. INTRODUÇÃO	68
2. REVISÃO DE LITERATURA	69
2.1. Alterações e Distúrbios do Metabolismo Insulino Dependente Relacionados com a Obesidade	69
2.2. Tecido Adiposo e Adipocinas.....	69
2.2.1. Leptina	69
2.2.2. Adiponectina	70
2.2.3. Adipocinas de ação cardiovascular	71
2.2.4. Fator de Necrose Tumoral α e Interleucina-6 (TNF- α e IL-6).....	71
3. MATERIAL E MÉTODOS	72
3.1. Animais e Critérios de Amostragem	72
3.2. Escore de Condição Corporal	72
3.3. Amostras.....	72
3.4. Determinação de Colesterol Total e Triglicérides Plasmáticos.....	73
3.5. Determinação de Glicemia, Concentração de Insulina Plasmática e Cálculo de Proxies de Sensibilidade à Insulina	73
3.6. Análises Estatísticas	74
4. RESULTADOS	75
5. DISCUSSÃO.....	77
6. CONCLUSÃO	78
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	79
CONCLUSÃO GERAL	82
ANEXO 1: Aprovação do protocolo experimental pelo Comitê de Ética no Uso de Animais	83
ANEXO 2: Termo de Livre Consentimento Esclarecido/Amostra Basais.....	84
ANEXO 3: Termo de Livre Consentimento Esclarecido/ Teste Dinâmico	86

INTRODUÇÃO GERAL

A obesidade vem sendo estudada como uma condição de risco a saúde em diversas espécies, dentre elas o homem, animais de companhia como cães e gatos e animais de trabalho como o cavalo. Essa característica vem crescendo desde a revolução agrícola, que facilitou e barateou o consumo e o uso de cereais, que assim foram introduzidos na dieta do homem e dos animais que o rodeia.

Alterações metabólicas relacionadas à obesidade estão associadas ao aparecimento de doenças do sistema cardiovascular e endócrino, alterando o metabolismo energético e oxidativo do animal com sobrepeso ou obeso.

Sabe-se também, que há influência genética na expressão do fenótipo obeso, muito provavelmente devido à seleção de animais que conseguissem manter escore corporal (EC) em período anterior a revolução agrícola, agindo como pressão de seleção o fato do indivíduo ser apto a manter EC satisfatório em épocas de pouca ou nenhuma oferta de alimentos

Um dos quadros relacionados intimamente a obesidade em equinos, é a Síndrome Metabólica Equina (SME). Através do consenso da *American College of Veterinary Internal Medicine* (FRANK et al., 2010), a síndrome pode ser caracterizada em animais obesos ou lipodistróficos que apresentam alterações no metabolismo de insulina e laminite. Fatores frequentemente associados, mas não determinantes para o diagnóstico são dislipidemia e alteração do ciclo reprodutivo em éguas. Além disso, o quadro é estudado como fator predisponente para o aparecimento da síndrome de Cushing devido a adenoma de *pars intermedia* de hipófise em animais idosos.

No sudeste do Brasil, uma das raças mais difundidas é a Mangalarga Marchador (MM), originada de cruzamentos de diversas raças, como Álder e Andaluz. Desses animais, originou-se a raça, com 26 linhagens distintas atualmente (ABCCMM, 2016). O cruzamento dos animais dentro da raça é comum para manter o padrão de três apoios característico do conforto de marcha que esse animal proporciona ao seu cavaleiro, aumentando o índice de consanguinidade e homozigose.

Estudos recentes demonstram que uma das raças de formação do MM, o Andaluz, apresenta predisposição à obesidade e alterações no metabolismo da insulina decorrentes do quadro (MARTINEZ-GIMENEZ et al., 2016). Dessa forma, devido ao interesse econômico, padrão de cruzamento da raça e interesse clínico a fim de evitar comorbidades associadas, o estudo acerca da obesidade e função insulínica dentro da raça MM apresenta interesse científico.

A proposta deste estudo foi avaliar se o sobrepeso e a obesidade ocorrem em proporção significativa em cavalos da raça Mangalarga Marchador e se isso contribui para a ocorrência de alterações relacionadas diretamente ou indiretamente à disfunção insulínica.

CAPÍTULO I

OCORRÊNCIA DE OBESIDADE E RESISTÊNCIA À INSULINA EM CAVALOS DA RAÇA MANGALARGA MARCHADOR

RESUMO

A obesidade e resistência à insulina são consideradas condições prodrômicas à ocorrência de laminite em caso de Síndrome Metabólica Equina (SME). Fatores inatos como sexo, idade e escore corporal e fatores relacionados ao manejo como dieta e rotina de exercícios têm impacto no desenvolvimento do quadro. Foram avaliados 100 animais da raça Mangalarga Marchador (MM) quanto a escore corporal (EC), escore de pescoço (EP), porcentagem de gordura (%_{gord}), glicemia de jejum (GLC), insulinemia de jejum (INS), valores preditivos de sensibilidade à insulina (RISQI) e secreção β -pancreática (MIRG) e seus quintis (QUINT_{RISQI} e QUINT_{MIRG}). Os dados obtidos foram alocados de acordo com sexo, faixa de escore, faixa etária e sistema de criação a fim de avaliar diferentes aspectos intrínsecos dos animais. Houve influência do sexo em EC ($p=0,04$), EP ($p<0,01$) e GLC ($p=0,03$), sendo que garanhões tiveram resultados superiores a éguas. Em outra análise, o EC influenciou os resultados de EP ($p<0,01$), %_{gord} ($p<0,01$); INS ($p<0,01$), RISQI ($p<0,01$), QUINT_{RISQI} ($p<0,01$) e MIRG ($p=0,02$), sendo que os animais com sobrepeso e obesos tiveram EP e %_{gord} maiores que magros e em EC ideal, animais com sobrepeso tiveram INS maior que animais em EC ideal, menor RISQI e QUINT_{RISQI} e animais obesos apresentaram maior MIRG que animais em escore ideal. De acordo com a faixa etária, houve diferença na %_{gord} ($p=0,01$), GLC ($p<0,01$) e MIRG ($p=0,04$), sendo que animais jovens apresentaram menor %_{gord} que adultos, GLC maior que adultos e Idosos e MIRG menor que adultos. Quando avaliado sistema de criação, houve diferença entre os grupos quando avaliados EC ($p<0,01$), EP ($p<0,01$), %_{gord} ($p<0,01$), INS ($p<0,01$), MIRG ($p<0,01$) e QUINT_{MIRG} ($p<0,01$), RISQI ($p<0,01$) e QUINT_{RISQI} ($p<0,01$), sendo que animais em sistema intensivo tiveram EC, EP, %_{gord} INS, MIRG e QUINT_{MIRG} superiores aos mantidos em sistema extensivo e RISQI e QUINT_{RISQI} inferiores comparados aos de sistema extensivo. Os aspectos intrínsecos e de manejo dos animais demonstraram ter impacto sobre o padrão de deposição de gordura corporal e no metabolismo insulino-dependente da glicose

Palavras chave: equino, adiposidade, sensibilidade à insulina, secreção β -pancreática, Síndrome Metabólica Equina

ABSTRACT

Obesity and insulin resistance can be considered as prodromal conditions for the occurrence of laminitis in Equine Metabolic Syndrome (EMS). Innate factors such as gender, age, and body condition, and management factors such as diet and exercise routine impact in the development of the syndrome. A total of 100 Mangalarga Marchador (MM) horses were evaluated in the study and parameters of body condition score (BCS), neck condition score (NECK), percentage of body fat (%_{fat}), fasting glucose (GLU), fasting insulin (INS), proxies of insulin sensitivity (RISQI) and β -pancreatic secretion (MIRG) and its quintiles (QUINT_{RISQI} and QUINT_{MIRG}) were compared according to sex, score range, age and housing in order to evaluate these different. Sex influenced results in BCS ($p=0,04$), NECK ($p<0,01$) and GLU ($p=0,03$), with Stallions showing higher results compared to Mares. BCS influenced results of NECK ($p<0,01$), %_{fat} ($p<0,01$), INS ($p<0,01$), RISQI ($p<0,01$), QUINT_{RISQI} ($p<0,01$) and MIRG ($p=0,02$), where overweight and obese horses had NECK and %_{fat} higher than thin and ideal. Overweight showed higher INS and lower RISQI and QUINT_{RISQI} than ideal, and obese had higher MIRG than ideal. Age influenced %_{fat} ($p=0,01$), GLU ($p<0,01$) and MIRG ($p=0,04$), with young animals showing lower %_{fat} compared to adults, higher GLU than adults and elders, and lower MIRG than adults. When assessed housing management, there was influence in BCS ($p<0,01$), NECK ($p<0,01$), %_{fat} ($p<0,01$), INS ($p<0,01$), MIRG ($p<0,01$) e QUINT_{MIRG} ($p<0,01$), RISQI ($p<0,01$) and QUINT_{RISQI} ($p<0,01$), where animals in intensive housing had higher BCS, NECK, %_{fat}, INS, MIRG and QUINT_{MIRG} and lower results of RISQI e QUINT_{RISQI} compared with Extensive. Innate and management aspects showed to have impact in body fat deposition and insulin-dependent glucose metabolism.

Keywords: equine, adiposity, insulin sensitivity, β -pancreatic secretion, Equine Metabolic Syndrome

1. INTRODUÇÃO

O gasto de energia para manutenção é a quantidade de energia necessária para manter a homeotermia e realizar exercícios, para o crescimento, lactação, produtos de concepção e outras funções (FRAPE, 2007). Alterações no oferecimento de energia vão ser determinantes para que o organismo se encontre em estado anabólico ou catabólico nos diferentes estágios de vida e funções, assim como tamanho e peso, vão influenciar essa demanda energética, que se torna variável por consequência. O aumento de depósitos de moléculas de reserva, como lipídeos, acontece em situações de demanda energética positiva, como forma de estocagem de energia pelo organismo.

A obesidade tem sido apontada como uma condição alarmante no que diz respeito à saúde humana e animal. Sua ocorrência vem aumentando nas últimas décadas não só na espécie humana, mas também nos animais domésticos, como um reflexo da proximidade do animal ao homem, da maior oferta de alimentos e do aumento do sedentarismo.

O ponto de alerta para o aumento dos índices de obesidade é que a condição pode ser diretamente relacionada a distúrbios endocrinometabólicos. Esses distúrbios, nas diferentes espécies, se apresentam de formas similares, onde a alteração do metabolismo da insulina é um ponto em comum (JOHNSON, 2002).

Em humanos, indivíduos que apresentam a Síndrome Metabólica (SMet) apresentam sintomas como obesidade, diminuição da sensibilidade à insulina, doenças vasculares e cardíacas, alteração do metabolismo de gorduras, doença hepática e alterações de ordem reprodutiva (WHO, 2012). À semelhança do que ocorre em humanos, existe a Síndrome Metabólica Equina (SME), que cursa com obesidade, diminuição da sensibilidade à insulina e laminite. Nesses animais, podem ser encontradas também alterações do metabolismo de lipídeos, do ciclo reprodutivo e alterações articulares (FRANK et al., 2010).

Além do fator ambiente, sabe-se que há fator genético para o aparecimento da síndrome (TREIBER et al., 2006a). Pode-se apontar como decisivo a pressão de seleção genética de animais mais resistentes a períodos de baixa oferta de alimentos ao longo da evolução da espécie

Foi demonstrado recentemente influência da raça na função insulínica de cavalos. Entre as raças estudadas está o Andaluz, que apresentou predisposição à obesidade e alterações no metabolismo da insulina (MARTINEZ-GIMENEZ et al., 2016). Devido a influência genética apresentada no quadro, o estudo de aspectos inatos e referentes ao manejo se torna relevante em animais da raça MM

Historicamente, o Brasil teve em sua formação o latifúndio como principal forma de propriedade agrícola. O deslocamento entre fazendas consistia em grandes distâncias que eram percorridas principalmente com auxílio de equídeos, entre os quais o cavalo. Dessa forma, foram selecionados, a partir de cruzamentos, animais de andamento confortável, para que o cavaleiro não sofresse com a montaria. Nesse contexto deu-se a formação da raça Mangalarga Marchador (MM) no sudeste do Brasil, utilizando raças europeias, entre elas o cavalo Andaluz, que deram origem a um cavalo que tem como andamento característico a marcha em tríplice apoio.

Fatores de manejo como dieta e exercício influenciam o balanço energético dos animais. Animais em vida livre comportam-se como andarilhos (COOPER; MASON, 1998; McAFEE et al., 2002), não havendo restrição de exercício como em casos de animais estabulados. Além disso, pouco ou nenhum concentrado energético de nenhuma fonte é usado na rotina desses animais, sendo sua dieta baseada no consumo de gramíneas de clima tropical, com baixos índices de carboidratos não estruturais (WATTS, 2004) nos pastos da região Sudeste do Brasil.

A proposta deste estudo foi avaliar a influência de fatores inatos e ambientais sobre a ocorrência de obesidade e alterações da função insulínica em uma amostra de animais da raça MM em centros de criação no estado do Rio de Janeiro.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. O Cavallo Doméstico: Aspectos Espécie-Específicos de Relevância ao Manejo

O cavalo foi um dos primeiros animais a ser domesticado pela espécie humana, há cerca de 8000 anos (McDONNELL, 2002). Em vida livre, eles se comportam como animais andarilhos, com características sociais complexas, herbívoros de hábito pastejador (COOPER; MASON, 1998; McAFEE et al., 2002).

Algumas práticas de manejo podem contribuir para o desenvolvimento da obesidade em cavalos adultos durante sua fase de crescimento, como o uso de suplementos ricos em amido e suplementação usando óleo em animais sedentários e estabulados. O aparecimento da obesidade em cavalos a partir da maturidade sexual está associado com o oferecimento de dietas ricas em carboidratos solúveis e baixo nível de exercício diário (JOHNSON, 2002). A utilização de dieta rica em carboidratos pode interferir no mecanismo de sensibilidade à insulina (HOFFMAN et al., 2003), já que picos na concentração de insulina estão envolvidos no processo de inibição da transcrição e expressão dos carreadores de glicose insulino-dependente (GLUT-4) (FLORES-RIVEROS et al., 1993) e o aumento da ingestão calórica estar relacionada ao processo de inativação do GLUT-4 devido a dano oxidativo (BODEN et al., 2015).

O método para se manter a ambiência no sistema de criação de equinos é a utilização do sistema extensivo, onde os cavalos são mantidos em pastagem ou piquetes ao invés de estabulados. Dessa forma, os animais podem exercitar e alimentar-se *ad libitum* enquanto socializam com outros animais, diminuindo níveis de estresse (COOPER; MASON, 1998).

2.2. Obesidade

Sobrepeso e obesidade são definidos como o depósito anormal de gordura que podem levar a riscos à saúde. Em humanos, a obesidade é fator de risco para o aparecimento de diversas doenças crônicas como diabetes, doenças cardiovasculares e câncer (WHO, 2012) e sua ocorrência aumentou nas últimas décadas, o que gera alarme no que diz respeito à saúde humana e animal.

O ponto de alerta para o aumento dos índices de obesidade é que a condição pode ser diretamente relacionada a distúrbios endocrinometabólicos. Esses distúrbios, se apresentam de formas similares nas diferentes espécies, onde uma das alterações encontradas é a do metabolismo energético envolvendo a insulina (JOHNSON, 2002).

O tipo de dieta e sedentarismo são incriminados como fatores de risco à saúde humana. Em paralelo, sistemas de criação de equinos baseados no fornecimento de rações ricas em energia e confinamento, restringindo a atividade física dos cavalos, favorecem a ocorrência de obesidade (JOHNSON, 2002).

Um fator que pode ser abordado é o desconhecimento por parte de proprietários e criadores do escore corporal considerado ótimo para a vida saudável do animal (NAHMS, 2006; THATCHER et al., 2012). Fora do país isso fica claro comparando os resultados entre a percepção do proprietário e a avaliação técnica do censo promovido pelo *National Animal Health Monitoring System* (2006) e dos resultados obtidos da pesquisa de Thatcher et al. (2012). A aplicação de métodos consagrados para determinar o escore corporal (EC) e adiposidade dos animais provê um dado fidedigno de condição corpórea dos animais quando comparado à percepção empírica de cada criador.

Algumas práticas de manejo podem contribuir para o desenvolvimento da obesidade em cavalos (JOHNSON, 2002). O quadro, *per se*, favorece o aumento do estresse oxidativo e

da inflamação, além do surgimento de doenças como artrite e laminite (JOHNSON et al., 2004a; VICK et al., 2007).

2.3. Ambiente vs Genética

Cavalos classificados como obesos geralmente têm alta conversão alimentar e apresentam baixa sensibilidade a insulina, mas mantendo a glicemia dentro dos padrões de normalidade (JOHNSON, 2002; FRANK et al., 2010).

Através da análise genealógica em humanos conseguiu-se traçar um efeito genético sobre o fenótipo obeso e o desenvolvimento de Síndrome Metabólica (KEREM; GUTTMANN; HOCHBERG, 2001). Além do fator ambiente, sabe-se que há influência de fator genético para o aparecimento do quadro de Síndrome Metabólica Equina (TREIBER et al., 2006a). Pode-se apontar como uma das causas a seleção natural durante a evolução da espécie de animais mais resistentes a períodos de baixa oferta de alimentos.

A condução de cruzamentos favorecendo a endogamia, praticados a fim da manutenção de características de raça, pode influenciar no aparecimento do fenótipo obeso. Torna-se interessante o estudo da raça Mangalarga Marchador, já que a mesma é uma das raças mais difundidas no país. Sua criação tem origem em fazendas no Sul de Minas Gerais, sendo posteriormente difundida por todas as regiões do Brasil (COSTA et al., 2005a), com cerca de 500 mil animais registrados (GOMES – comunicação verbal, 2016). É a principal raça criada no estado Rio de Janeiro, sendo utilizada no trabalho do campo e em esportes hípicas, lazer e terapia de reabilitação (COSTA et al., 2005b). A formação desta raça se deu na região sudeste do Brasil, a partir de cruzamentos de raças europeias. Para manter a característica do tríplice apoio, são realizados cruzamentos entre linhagens com nível elevado de homozigose e consanguinidade, que eventualmente podem também selecionar características não desejadas dentro da raça.

2.4. Métodos de Avaliação de Adiposidade em Equinos

Alguns métodos de predição de adiposidade podem ser utilizados na rotina da clínica de equinos. O mais difundido é a escala de escore corporal de 1 a 9 (HENNEKE et al., 1983). Outros dois métodos de avaliação são a escala de escore de pescoço (CARTER et al., 2009a) e a determinação da porcentagem de gordura livre a partir de dados ultrassonográficos de espessura de capa de gordura (WESTERVELT et al., 1976).

2.4.1. Escala de escore corporal (EC)

Em equídeos, a categorização de acordo com o escore corporal (HENNEKE et al., 1983) tem valor diagnóstico para a obesidade semelhante ao Índice de Massa Corporal utilizado na população humana (JOHNSON et al., 2006). A difusão e utilização deste método simples de diagnóstico para a obesidade nesses animais é importante quando se observa que em paralelo a epidemia de obesidade humana, há um crescente reconhecimento de que a obesidade é comum a muitas espécies de animais domésticos, incluindo cavalos (PRATT et al., 2006; WYSE et al., 2008; THATCHER et al., 2012).

Nesse tipo de avaliação, os animais são classificados em uma escala proposta que categoriza os animais de 1 a 9, levando-se em conta locais de deposição de gordura (por saber bordo dorsal do pescoço, cernelha, dorso-lombo, inserção da cauda, costado, região caudal a palheta, região do teto em fêmeas e gordura de capadura em machos castrados), onde o escore 1 é atribuído ao animal em condição caquética e o escore 9, ao animal extremamente obeso, por meio de avaliação visual e palpação das áreas chave (Figura 1). Durante a realização do

exame, o avaliador pode atribuir uma variação de 0,5 ponto, como forma de demonstrar transição entre escores. O método está descrito no Quadro 1.

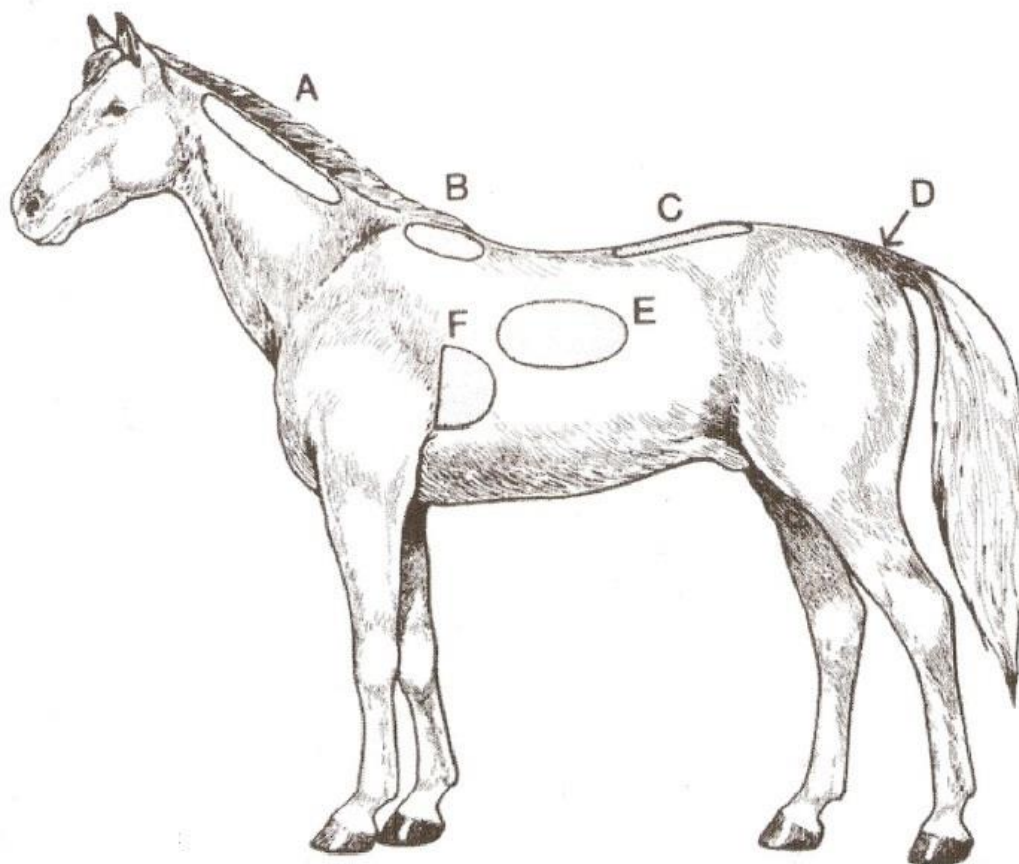


Figura 1: Pontos de deposição de tecido gorduroso comum a equinos machos e fêmeas. A= bordo dorsal do pescoço, B= cernelha, C= dorso-lombo; D= inserção da cauda; E= costado; F= região caudal à palheta (Fonte: <http://www.equisearch.com/premium/body-condition-scoring-horse-30678>)

2.4.2. Escala de Escore de Pescoço

Outro método auxiliar de avaliação de adiposidade é a escala de escore de pescoço (CARTER et al., 2009a). Os animais são classificados numa escala de 0 a 5, por meio de inspeção e palpação da tábua do pescoço (Figura 2) como descrito no Quadro 2.

As medidas de perímetro e do escore de pescoço demonstraram ter correlação negativa com os dados obtidos de sensibilidade à insulina (CARTER et al., 2009a, CARTER et al., 2009b). Essa mensuração tem implicação semelhante à circunferência de cintura utilizada em humanos obesos e está relacionado à gravidade clínica de doenças como a laminite. A diminuição da sensibilidade à insulina está associada com quadros de laminite (TREIBER et al., 2006b), além de obesidade, rabdomiólise de exaustão, osteocondrose (HOFFMAN et al., 2003) e alterações reprodutivas (VICK et al., 2006).

Quadro 1: Descrição de escore corporal (EC). Adaptado de Henneke et al. (1983)

EC	DESCRIÇÃO
1	Animal extremamente magro; estrutura óssea do pescoço, cernelha e ombros facilmente perceptível, processos espinhosos, costelas, ossos da inserção da cauda, íleo e ísquio se projetam de forma proeminentes; sem tecido adiposo palpável.
2	Animais magros; ligeira cobertura adiposa sobre a base dos processos espinhosos, processos transversos das vértebras lombares arredondados; processos espinhosos, costelas, ossos da inserção da cauda, íleo e ísquio proeminentes; cernelha, ombros, pescoço e estrutura ligeiramente discernível.
3	Acúmulo de gordura nos processos espinhosos; apófises transversas não podem ser sentidas; pequena cobertura de gordura nas costelas; processos espinhosos e costelas facilmente perceptíveis; ossos da inserção da cauda proeminentes, mas vértebras não são identificados visualmente; região do íleo arredondada, mas proeminente; ísquios não distinguíveis; cernelha, ombros e pescoço acentuados.
4	Ligeira crista ao longo das costas, leve esboço de costelas visível; destaque da inserção da cauda depende de conformação do animal com gordura palpável ao seu redor; íleo não distinguível; cernelha, ombros e pescoço não tão obviamente magros.
5	Região dorsal plana (sem vinco ou crista); costelas não visualmente distinguíveis, mas facilmente palpáveis; gordura ao redor base da cauda começando a ter consistência esponjosa; cernelha insere-se arredondada sobre os processos espinhosos; ombros e pescoço harmoniosos com o corpo.
6	Pode ter ligeiro vinco nas costas, gordura sobre costelas de consistência esponjosa; gordura ao redor da base cauda macia; pouca gordura depositada na cernelha, atrás dos ombros e pescoço.
7	Pode ter ligeiro vinco nas costas; costelas palpáveis, mas perceptível preenchimento com gordura entre as costelas; gordura ao redor da inserção da cauda macia, gordura depositada ao longo de cernelha, atrás dos ombros, e ao longo pescoço.
8	Vinco nas costas; difícil sentir as costelas, gordura da inserção da cauda muito macia; área da cernelha cheia por gordura, área atrás do ombro espessada, gordura visível no pescoço; gordura depositada ao longo de parte interna das coxas.
9	Vinco óbvio nas costas; cobertura de gordura irregular sobre as costelas, saliência de gordura na inserção da cauda; gordura ao longo de cernelha, atrás dos ombros e ao longo pescoço, parte interna das coxas pode se encontrar; flanco cheio de gordura.

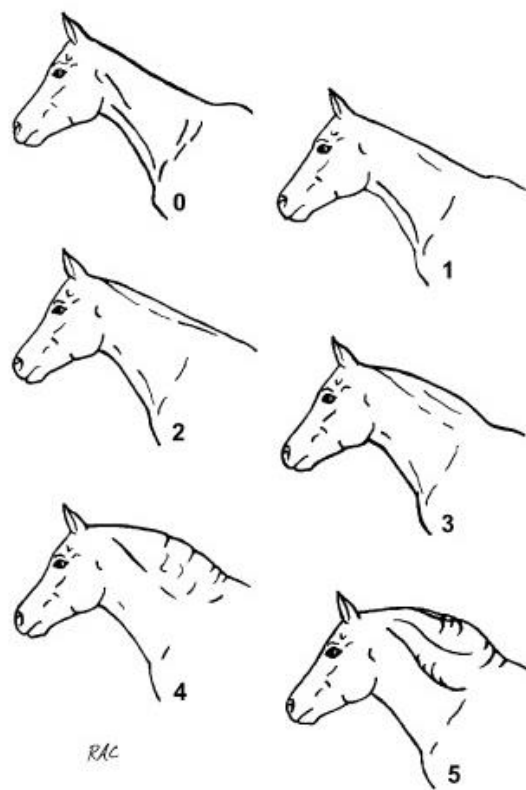


Figura 2: Guia para avaliação de escore de pescoço (CARTER et al., 2009a).

Quadro 2: Descrição de escore de pescoço. Adaptado de Carter et al. (2009a)

EP	DESCRIÇÃO
0	Nenhuma crista visível (tecido aparente acima do ligamento da nuca) e nenhuma crista palpável
1	Sem crista visível, mas com ligeiro preenchimento sentido à palpação
2	Crista aparente, mas a gordura é depositada de forma bastante equilibrada da nuca até a cernelha, a crista pode ser palpada facilmente com uma das mãos e pode ser deslocada de lado a lado.
3	Crista grossa e endurecida, com maior deposição de gordura no meio do pescoço, a crista pode ser palpada com uma das mãos, mas há diminuição da maleabilidade
4	Crista notadamente larga e endurecida, a crista não consegue ser palpada somente com uma mão e não consegue haver lateralização, pode haver sulcos e rugas no topo da crista.
5	A crista é tão grande que se mantém todo tempo caída para um dos lados

2.4.3. Estimativa de porcentagem de gordura

Cálculos podem ser utilizados para determinação de porcentagem de gordura corporal baseado na espessura da camada de gordura avaliada por exame de ultrassom da região da garupa. Essa determinação pode ser usada como método de avaliação de programas de exercício e dieta dos animais (WESTERVELT et al., 1976).

Para a determinação, os animais devem ser pesados e ser realizada a mensuração da espessura de tecido adiposo na área da garupa, usando aparelho de ultrassom. A técnica consiste em obter a imagem no ponto médio da linha imaginária traçada entre as tuberosidades ília e isquiática de um dos lados da garupa, respeitando-se a anatomia topográfica de cada raça, no sentido lateral (Figura 3).

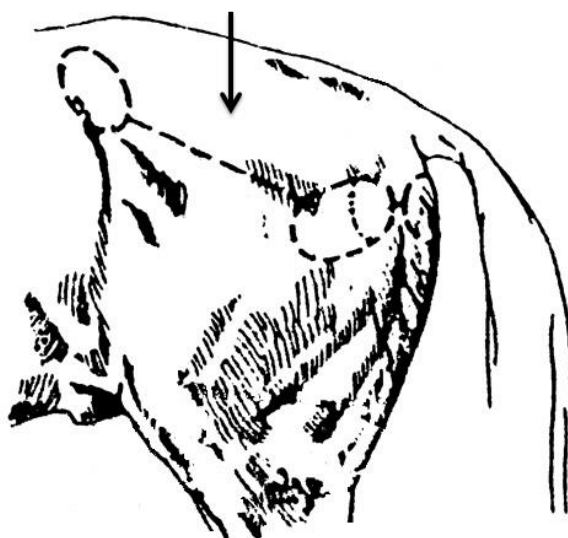


Figura 3: Esquema de vista lateral da região da garupa em membro pélvico de equino (adaptado de Schaller, 1999). A seta indica local de posicionamento do transdutor para realização do exame ultrassonográfico para mensuração da espessura de camada de tecido adiposo na região utilizado na técnica de Westervelt et al., 1976

A porcentagem de gordura corporal ($\%_{gord}$) é estimada por meio da equação (WESTERVELT et al., 1976):

$$\%_{gord} = 8,64 + (4,70 \times \text{espessura do tecido adiposo, em centímetros})$$

2.5. Síndrome Metabólica Equina (SME)

Em humanos, o termo Síndrome Metabólica é empregado para descrever um conjunto de fatores de risco associados ao desenvolvimento de doença cardiovascular. A Síndrome Metabólica é caracterizada pela presença de resistência à insulina acompanhada de pelo menos duas das seguintes alterações: obesidade, hipertensão, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia e albuminúria (ALBERTI; ZIMMET, 1998; WHO, 1999). O conceito de resistência à insulina é que níveis normais ou aumentados de insulina produzem uma resposta biológica reduzida; referindo-se, classicamente, à disparidade na sensibilidade da insulina mediada pela disponibilidade de glicose (TREIBER et al., 2006b; WILCOX, 2005).

O termo Síndrome Metabólica Equina foi empregado primeiramente por Johnson (2002), referindo-se a cavalos com histórico de laminite, resistência à insulina e uma característica fenotípica de espessamento da crista do pescoço com depósitos de gordura na cernelha e no dorso.

A princípio houve divergência sobre a nomenclatura utilizada nas síndromes observadas em cavalos adultos obesos. A resistência à insulina está relacionada como fator de risco para o aparecimento de dislipidemia, adenoma pituitário, osteocondrose, laminite aguda e laminite subclínica. As nomenclaturas adotadas foram utilizadas por associação aos sintomas observados em humanos (KRONFELD, 2003).

Em 2010, o *American College of Veterinary Internal Medicine*, chegou a um consenso em que seriam denominados de Síndrome Metabólica Equina quadros em que os animais apresentassem obesidade ou lipodistrofia, laminite clínica ou histórico de claudicação sem estar associada a nenhum outro fator predisponente e resistência à insulina, detectada através de testes de sensibilidade a insulina (FRANK et al., 2010) ou concentração de insulina basal acima de 20 μ UI/ml (DUNBAR et al., 2016).

É importante frisar que no hemisfério norte há o fenômeno de laminite associada ao pastejo. O quadro apresenta sazonalidade e animais com fenótipo da SME, quando mantidos em pastagens na época de primavera, vem a desenvolver o quadro de laminite (GEOR, 2010; FUNK et al., 2012; BORER-WEIR et al., 2013). Não há dados até o momento acerca de influência de sazonalidade no hemisfério sul.

Esse fato pode estar relacionado aos processos bioquímico e fisiológicos de digestão dos substratos disponíveis na pastagem. É sabido que também é encontrada sazonalidade na concentração de carboidratos não estruturais em pastagens. Carboidratos estruturais são polissacarídeos que compõem a parede celular vegetal, enquanto carboidratos não-estruturais (CNE) são os demais glicídeos encontrados no vegetal, como açúcares simples, dissacarídeos, frutanos e amido. A concentração de CNE na forragem é resultado de uma interação de diversos fatores (WATTS, 2004).

Deve-se levar em contato o tipo de gramínea de formação do pasto utilizado. Pastos no hemisfério norte são compostos predominantemente por gramíneas de clima temperado (metabolismo energético com compostos de 3 carbonos – C3), enquanto na maior porção do hemisfério sul, pastos são formados predominantemente por gramíneas de clima tropical (metabolismo energético com compostos de 4 carbonos – C4). Uma diferença a ser notada na fisiologia vegetal dos dois tipos de forragem é o tipo de carboidrato que a planta produz como reserva para situações de estresse como alteração de incidência solar, alteração de temperatura e seca. Gramíneas C3, em períodos de clima frio, acumulam grande quantidade de reserva de carboidratos, principalmente frutanos. Já gramíneas C4 tem uma limitação de estocagem energética, devido a características fisiológicas e bioquímicas intrínsecas que levam a planta a estocar amido como fonte de reserva (WATTS, 2004).

A concentração média de CNE comparando gramíneas C3 e C4 é diferente tanto em condições de clima frio ou quente. À temperatura de 15-25°C, gramíneas C4 apresentam concentração total de CNE de 92 ± 51 mg/gMS, sendo 4 ± 6 mg/gMS de frutanos, 22 ± 19 mg/gMS de sacarose, 13 ± 15 mg/gMS de glicose, 8 ± 15 mg/gMS de frutose e 47 ± 24 mg/gMS de amido, enquanto gramíneas C3 apresentam concentração total de CNE de 107 ± 51 mg/gMS, sendo 12 ± 25 mg/gMS de frutanos, 23 ± 17 mg/gMS de sacarose, 18 ± 9 mg/gMS de glicose, 14 ± 9 mg/gMS de frutose e 41 ± 21 mg/gMS de amido. À temperatura de 5-10°C, as diferenças são ainda maiores nas concentrações de CNE. Gramíneas C4 apresentam uma concentração total de CNE de 166 ± 74 mg/gMS, sendo 3 ± 6 mg/gMS de frutanos, 66 ± 40 mg/gMS de sacarose, 22 ± 17 mg/gMS de glicose, 14 ± 17 mg/gMS de frutose e 68 ± 46 mg/gMS de amido, enquanto gramíneas C3 apresentam uma concentração total de CNE de 312 ± 130 mg/gMS, sendo 115 ± 101 mg/gMS de frutanos, 58 ± 38 mg/gMS

de sacarose, 29 ± 15 mg/gMS de glicose, 24 ± 19 mg/gMS de frutose e 86 ± 39 mg/gMS de amido (CHATTERTON et al., 1989).

Outros dados bromatológicas de alimentos comumente utilizados na dieta de equinos no hemisfério sul são sobre a concentração de CNE, e não constituintes específicos, do feno de tifton. Em feno de capim tifton-85, é encontrado 8,44% de CNE (ARRUDA et al., 2008). O dado de CNE do feno de alfafa advém de estudos executados no hemisfério norte e gira em torno de 11,39% (WATTS, 2004). A quantidade de CNE em ração peletizada é de 45,04% (ARRUDA et al., 2008), mas essa concentração pode variar dependendo da qualidade da ração utilizada.

2.6. Recomendações para o Combate à Síndrome Metabólica Equina

Até o momento, a principal forma de combate a Síndrome Metabólica Equina é através de alterações no manejo dos animais. Todas as alterações têm em comum aperfeiçoar o mecanismo insulino dependente de captação de glicose, sendo que o papel da insulina no metabolismo de carboidratos está ligado à sua modulação nos carreadores de glicose GLUT-4 (WILCOX, 2005). A resistência à insulina acontece quando níveis normais ou aumentados de insulina produzem uma resposta biológica reduzida; isso se refere, classicamente, à disparidade na sensibilidade à insulina mediada pela disponibilidade de glicose (WILCOX, 2005; TREIBER et al., 2006a). Alteração da fonte energética e programas de exercício se mostram mais eficientes do que manejo medicamentoso dos casos.

2.6.1. Manejo dietético: substituição de parte do carboidrato por gordura vegetal

Uma forma de acompanhamento e tratamento da Síndrome Metabólica Equina é através do manejo dietético, através da mudança da fonte energética do carboidrato para a gordura em dieta isocalórica. Em animais de enduro, a adição de óleo como fonte energética alternativa aumentou a sensibilidade à insulina após o exercício quando comparados com animais ingerindo dieta rica em carboidratos solúveis (HESS et al., 2007). O uso de gorduras vegetais também demonstrou aumentar a capacidade de captação de ácidos-graxos e aumento da sua taxa de oxidação (WALLER; LINDINGER, 2010). Deve-se tomar cuidado com esse tipo de manejo em animais que demonstrem sinais da SME, pois o aumento de deposição de gordura em tábua de pescoço pode ser observado (BAMFORD et al., 2016).

Uma forma de manejo da condição é através da inserção de programas de exercício na rotina dos animais. Em velocidades consideradas baixas a moderadas, a fonte de energia utilizada para a função muscular são predominantemente os lipídeos (VOTION et al., 2008).

2.6.2. Manejo de exercícios: inserção de programas na rotina dos animais

Através do acompanhamento sistemático das proxies referentes à secreção β -pancreática, encontrou-se que em animais que não apresentavam Síndrome Metabólica Equina havia uma menor secreção de insulina pelas células β -pancreáticas em meses onde a intensidade de exercício era maior quando comparados com meses em onde o exercício era de menor intensidade ou descanso em cavalos de uso militar (TURNER, 2009). Também foi encontrado um decréscimo dos valores de MIRC a partir da terceira semana em um protocolo progressivo de treinamento em esteira (CARTER, 2005). Uma diminuição da secreção de insulina das células β -pancreáticas foi notada, através do cálculo de AIRg, quando os animais foram submetidos ao teste durante o exercício, demonstrando o efeito do exercício sobre a secreção de insulina (TREIBER et al., 2006c). Esses dados são relevantes visto que a

diminuição da secreção de insulina com a manutenção da sensibilidade a insulina sugere um metabolismo energético mais eficiente na manutenção da euglicemia (MELLO, 2012).

2.6.3. Manejo medicamentoso: uso de fármacos

Formas medicamentosas de tratamento da condição não são substitutas para as adaptações de manejo. De qualquer forma, existe uma janela para modulação farmacológica da condição corporal dos animais. Uma possibilidade é o uso de levotiroxina que age na obesidade e resistência insulina, mas tem alto custo. A utilização de metformina como controlador da euglicemia é feita em casos de Síndrome Metabólica e Diabetes Mellitus do tipo 2 em humanos. Segundo Durham, 2012, a Metformina é segura e parece aumentar a sensibilidade à insulina em equídeos. No estudo de Vick et al. (2006), foi utilizada metformina com dose variando de 5,6-16,8 mg/kg de peso corporal. Estudos mais recentes usando a metformina não observaram efeito terapêutico da droga quando utilizada a dose de 15 mg/kg (DURHAM; RENDLE; NEWTON, 2008; TINWORTH et al., 2012). Em outro estudo, quando a dose utilizada foi de 30 mg/kg, houve redução da glicemia e concentração de insulina em um desafio oral de dextrose (RENDLE et al., 2013). O sítio de ação da droga é no intestino (FRANK; TADROS, 2014) sendo ainda necessárias pesquisas acerca de ajuste de dose e potencialidade no uso clínico da metformina no manejo da SME.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Animais e Critério de Amostragem

Este estudo foi submetido ao conselho de ética e experimentação animal da FAPUR/UFRRJ, estando registrado sob o nº 11/2012.

Foram visitados nove haras, localizados nos municípios do Rio de Janeiro (1), de Seropédica (2), de Paracambi (1), de Nova Iguaçu (1), de Vassouras (1) e de Itaguaí (3), com anuência dos proprietários ou responsáveis pelo rebanho.

Foram avaliados cavalos inteiros, castrados e éguas não-gestantes/não-lactantes com idade superior a 18 meses com registro provisório ou definitivo junto à associação da raça. Para exclusão de éguas gestantes/lactantes, foi utilizado registro de controle interno das propriedades. Animais indóceis foram não foram incluídos na amostragem. Após a primeira seleção, foram selecionados ao acaso até 25% de animais do número total de cada propriedade, sendo no máximo avaliados 25 animais em cada. O número total de animais da propriedade e de animais avaliados em cada uma estão descritos no quadro-5.

Quadro 3: Número total de animais e de animais avaliados de cada propriedade

Propriedade	Município	Total de animais	Animais avaliados
1	Seropédica	68	17
2	Itaguaí	40	8
3	Nova Iguaçu	54	11
4	Rio de Janeiro	200	23
5	Paracambi	48	12
6	Seropédica	40	10
7	Itaguaí	24	5
8	Itaguaí	16	4
9	Vassouras	45	10
Total		535	100

3.2. Critérios de Inclusão

Foram incluídos no estudo animais clinicamente sadios. O exame clínico dos animais constituiu-se de resenha, onde os animais foram identificados por nome e em seguida numerados de acordo com a propriedade avaliada na casa das centenas (1 a 9) e por ordem de avaliação na propriedade (01 até o máximo avaliado em cada propriedade). Foi tomado nota do sexo e idade dos animais, de acordo com a ficha de registro na associação da raça. Foi feita breve anamnese, onde a pessoa mais próxima à rotina do cavalo respondeu questões sobre história médica recente e pregressa e fatores sobre o ambiente e manejo do animal avaliado e da propriedade. Foi realizado exame físico levando em conta estado geral do animal e parâmetros vitais. Foi realizado exame de inspeção e palpação para detecção de claudicação (FEITOSA, 2008). Animais que apresentassem febre, feridas abertas, dificuldade respiratória, claudicação ou lesão aparente de qualquer origem ou prenhes ao exame físico foram excluídos da seleção.

Após avaliação clínica, foi realizado hemograma completo em contador automático de células¹ e determinação de fibrinogenemia pela diferença dos valores obtidos por

¹pocH-100iV Diff® (Sysmex Brasil Indústria e Comércio LTDA®)

refratometria da proteína total em soro fluoretado e após processo de desnaturação a 56°C por 3 minutos (ECKERSALL, 2008) na triagem, para excluir animais que apresentassem alterações hematológicas.

3.3. Escore de Condição Corporal e Escore de Pescoço

Um único e mesmo avaliador treinado realizou os exames de escore corporal e de pescoço de todos os animais. Os animais foram classificados segundo seu escore corporal (HENNEKE et al., 1983) em uma escala de 1 a 9 e de 0 a 5 de acordo com seu escore de pescoço (CARTER et al., 2009a).

3.4. Porcentagem de Gordura

A mensuração da espessura de tecido adiposo na área da garupa foi feita com o uso de um aparelho de ultrassom, usando transdutor linear, com frequência de 5 a 10 MHz. A técnica consiste em obter a imagem no ponto médio da linha imaginária traçada entre as tuberosidades íliaca e isquiática de um dos lados da garupa (WESTERVELT et al., 1976). Neste caso, foi padronizada a mensuração da camada adiposa, desde a musculatura até a camada interna da pele, sempre do lado esquerdo dos animais.

A porcentagem de gordura corporal foi estimada submetendo os dados obtidos durante a mensuração da camada de tecido adiposo da garupa à equação proposta por Westervelt et al. (1976), onde:

$$8,64 + (4,70 \times \text{espessura do tecido adiposo, em centímetros})$$

3.5. Amostras sanguíneas

As coletas de dados e de amostras sanguíneas foram realizadas ao longo dos anos de 2014 e 2015.

Foram realizadas coletas de sangue por punção da veia jugular, utilizando-se tubos de coleta à vácuo, para determinação da glicemia e insulinemia de jejum parcial dos animais selecionados. Foram utilizados tubos contendo anticoagulante fluoreto de potássio para determinação de glicemia e anticoagulante heparina sódica para determinação de concentração de insulina plasmática. Os animais foram mantidos em jejum parcial de concentrado por pelo menos 8 horas. Animais que se mostraram indóceis ao momento de coleta de sangue foram retirados do estudo, assim como os demais dados de avaliação clínica, a fim de evitar os efeitos do cortisol sobre a glicemia.

As amostras foram imediatamente acondicionadas em recipiente do tipo *cooller* contendo água e gelo e prontamente centrifugadas a 2000 g, em intervalo de tempo aproximado de 30 minutos, ainda no local de coleta. Alíquotas do plasma foram acondicionadas em microtubos de 1,5 ml. Após manipulação, as amostras foram reacondicionadas no recipiente do tipo *coller* contendo gelo e água e transportadas até o Laboratório de Pesquisas Clínicas em Grandes Animais (ClinLab) da UFRRJ, onde foram acondicionadas em *freezer* -20°C para posterior análise.

3.6. Determinação de Glicemia, Concentração de Insulina Plasmática e Cálculo de Proxies de Sensibilidade à Insulina

A determinação da glicemia² foi realizada no Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV) da UFRRJ, em analisador bioquímico automatizado³, utilizando-se kits comercialmente disponíveis, de acordo com as recomendações do fabricante.

As concentrações de insulina foram determinadas em duplicata por meio de radioimunoensaio sanduíche de fase sólida⁴ (OBA, 2014 – comunicação pessoal, dados não publicados). As análises foram realizadas no laboratório de Biofísica do Departamento de Ciências Fisiológicas da UFRRJ. Foi medida a insulina *in natura* das amostras. Para a execução do teste, os padrões, controles e amostras foram incubados em tubos revestidos com um primeiro anticorpo monoclonal na presença de um reagente contendo o segundo anticorpo monoclonal radio marcado com I¹²⁵. Depois de incubado, os tubos foram lavados com a solução de enxágue para retirar anticorpos radio marcados que não se ligaram à insulina. A determinação da radioatividade da ligação foi feita em aparelho gammacounter. As concentrações das amostras foram obtidas através de interpolação com a curva padrão usando programa de dados Graphpad Prism 5.0, sendo os dados obtidos diretamente proporcionais a radioatividade medida.

Os dados obtidos de glicemia e insulina plasmática foram submetidos às equações propostas por Treiber et al. (2005) para se obter os valores de predição da sensibilidade a insulina e da responsividade secretória de insulina das células β pancreáticas a glicose.

Para determinação da sensibilidade a insulina, os dados de insulina plasmática foram utilizados na equação que determina o recíproco quadrado inverso da insulina basal (do inglês: RISQI), onde:

$$RISQI = \frac{1}{\sqrt{\text{insulina basal}}} = \text{insulina basal}^{-0.5}$$

Para determinação da responsividade secretória de insulina das células β pancreáticas a glicose, os dados de glicemia e insulinemia foram utilizados na equação que determina a razão modificada insulina-glicose (do inglês: MIRG), onde:

$$MIRG = \frac{[800 - 0.30 \times (\text{insulina basal} - 50)^2]}{(\text{glicose basal} - 30)}$$

3.7. Análise Estatística

3.7.1. Agrupamento de dados

Após a coleta dos dados de resenha e exame clínico e laboratorial dos animais, os dados referentes a cada animal foram agrupados a fim de analisar aspectos que influenciam o aparecimento da obesidade e flutuações da sensibilidade à insulina. Os dados foram agrupados de acordo com sexo, faixa etária, faixa de escore e sistema de criação

3.7.1.1. Sexo

² Biosystems®

³A15® (Biosystems®)

⁴Insulin(e) IRMA Kit® (Beckman Coulter®)

Os animais foram separados em três categorias distintas de acordo com o sexo, a saber: Fêmeas (éguas não-gestantes/não-lactantes), Garanhões (machos inteiros) e Castrados (machos orquiectomizados).

3.7.1.2. Faixa etária

Características metabólicas de cada faixa etária foram levadas em conta para divisão das classes, levando-se em conta a maturidade óssea e sexual. Os animais foram categorizados em Jovem, Adulto e Idoso. Na categoria Jovem foram incluídos animais com idade de 1 a 4 anos, em Adulto, animais com idade de 5 a 18 anos e em Idoso, animais com idade superior a 18 anos (AMANN et al., 1979, JONES; BERNDTSON, 1986, CARNEVALE et al., 1993, PRICE et al., 1995, PARADIS, 2002, MOREL; NEWCOMBE; SWINDLERHURST, 2005).

3.7.1.3. Categorias de escore corporal

Os animais foram agrupados conforme o estado geral descrito por Henneke et al. (1983) em sua descrição de escore corporal (EC). Foi atribuída a variação 0,5 no EC de forma a denotar transição entre categorias. No grupo Caquético se encontravam animais com EC 1 a 3, em Magro os animais com EC 3,5 a 4, em Ideal animais com EC no intervalo 4,5 a 5,5, em Sobrepeso animais com EC no intervalo 6 a 7 e em Obeso, animais com EC no intervalo 7,5 a 9.

3.7.1.4. Sistema de criação

Foi levado em conta o sistema de criação, sendo Extensivo os animais criados a pasto ou soltos em piquetes, e Intensivo, animais criados em sistema de encocheiramento. Animais do grupo Extensivo tinham dieta baseada em alimentos volumosos e animais do grupo Intensivo recebiam volumoso de diferentes tipos (a saber: capim picado e/ou feno de tifton e/ou feno de alfafa) e alimentos concentrados em energia (rações comerciais).

3.7.2. Procedimentos Estatísticos

Os dados da amostra foram testados para detecção de outliers usando-se o pacote estatístico Reference Value Advisor v. 2.1 (GEFFRÉ et al., 2011).

Dados categóricos (escore corporal, escore de pescoço, quintil de RISQI e quintil de MIRG) foram submetidos à estatística não-paramétrica. Os dados de porcentagem de gordura, glicemia, concentração de insulina, RISQI e MIRG foram testados com o teste de Shapiro Wilk a cada situação avaliada para normalidade. Dados que aceitaram a distribuição gaussiana foram testados por testes paramétricos. Dados com distribuição não-normal foram submetidos a testes não-paramétricos.

Todos os testes utilizados levavam em conta variáveis independentes. Quando dois grupos foram analisados entre si, foi utilizado o teste t como teste paramétricos e o teste de Mann Whitney como teste não-paramétrico. Quando mais de dois grupos foram analisados entre si, foi utilizada ANOVA 1way como teste paramétrico, com subsequente teste de Tukey entre colunas e como método não-paramétrico foi utilizado Kruskal-Wallis, com subsequente teste de Dunn entre colunas. Dados normais foram expressos em média e desvio padrão, dados categóricos e não-normais foram expressos em mediana e amplitude. Foi respeitado o nível de significância a 5% em todos os testes utilizados.

Para a execução dos procedimentos estatísticos, foram utilizados os programas de dados Action Stat v. 3.1.43.702.667 e GrafPad Prism 5.0.

4. RESULTADOS

Os animais foram avaliados segundo sexo, faixa etária, categoria de escore corporal e sistema de criação. Dos animais, 58% eram fêmeas, 38% garanhões e 4% machos castrados; 40% eram jovens, 52% adultos e 8% idosos; quanto ao estado nutricional, 3% se encontravam caquéticos, 6% magros, 41% em escore corporal ideal, 42% com sobrepeso e 8% obesos; quanto ao sistema de criação, 53% se encontravam em manejo extensivo e 47% em manejo intensivo (Figura 4).

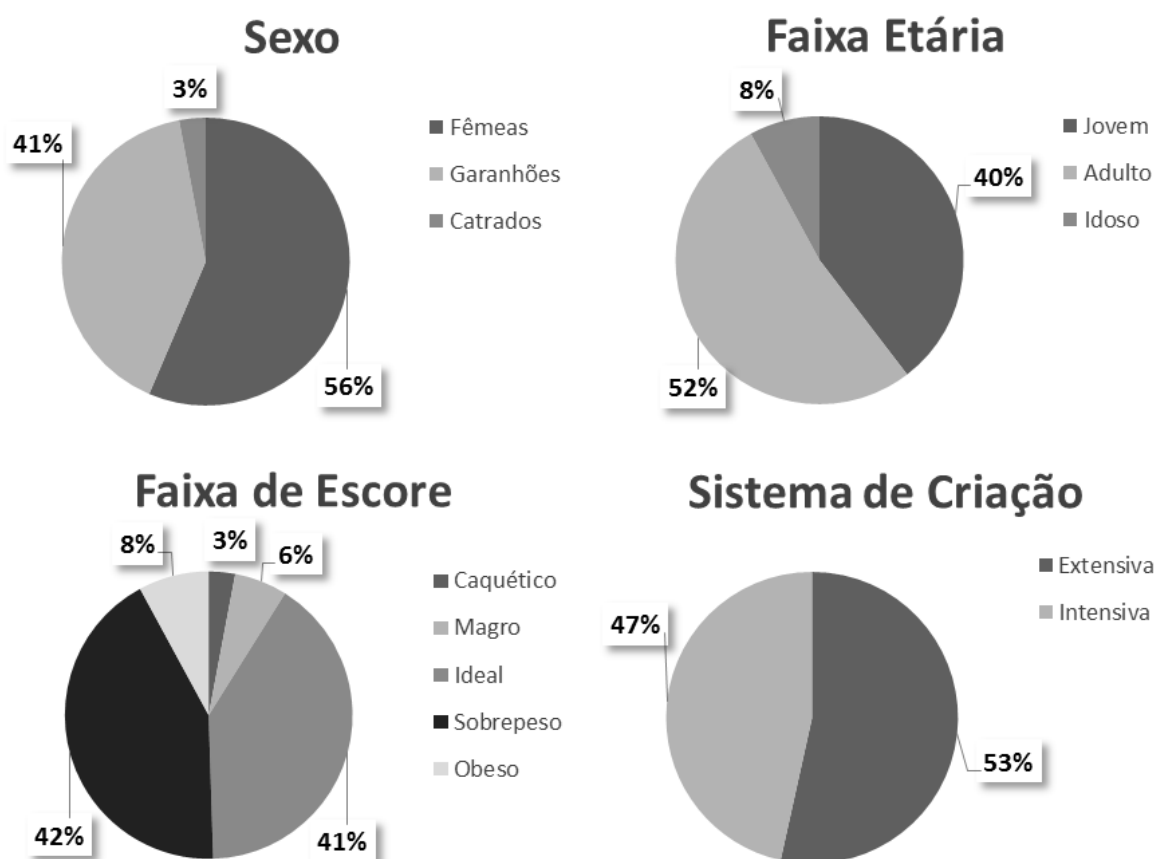


Figura 4: Distribuição de acordo com sexo, faixa etária, faixas de escore corporal e sistema de criação. Dados referentes a amostra encontram-se expressos em porcentagem.

Foram analisados dados colhidos de acordo com sexo (Tabela 1). O grupo Castrados não atingiu o mínimo estatístico ($n=3$), por isso foi excluído da análise. Os dados de EC foram superiores em Garanhões quando comparados com Fêmeas ($p=0,04$). O EP foi maior em Garanhões quando comparado com Fêmeas ($p<0,01$). A porcentagem de gordura se comportou de forma semelhante entre Garanhões e Fêmeas ($p=0,84$). A glicemia do grupo de Garanhões foi superior que a de Fêmeas ($p=0,03$). Não houve diferença entre os grupos na concentração plasmática de insulina ($p=0,16$), nos resultados de sensibilidade à insulina (RISQI: $p=0,35$) ou na secreção β -pancreática (MIRG: $p=0,33$), assim como não foi observada diferença quanto a alocação dos dados em seus respectivos quintis (RISQI: $p=0,20$; MIRG: $p=0,28$).

Tabela 1: Médias e desvios padrão de variáveis com distribuição normal, medianas e amplitudes de valores categóricos e variáveis com distribuição não-normal de acordo com sexo dos animais. Houve influência do sexo nos parâmetros escore corporal (EC), escore de pescoço (EP) e glicemia de jejum (GLC).

Parâmetros	Fêmeas	Garanhões
EC (0-5)	5,5 (6,0)	6,0 (4,0)**
EP (1-9)	2,5 (3,0)	3,0 (2,5)**
%_{gord} (%)	10,99 (8,74)	10,99 (4,98)
GLC (mg/dl)	75,5 ± 13,1	82,2 ± 16,9*
INS (mUI/L)	10,05 (96,92)	2,6 ± 0,84
RISQI (mUI/L _{ins}) ^{-0,5}	0,315 (0,863)	0,288 (0,564)
MIRG $U_{ins}2/(10.L.mg_{glic})$	5,88 (22,16)	7,65 (13,66)
QUINT_{RISQI} (1-5)	2,0 (4,0)	1,0 (4,0)
QUINT_{MIRG} (1-5)	5,0 (4,0)	5,0 (4,0)

Médias assinalados com () foram significativamente superiores pelo teste t no nível de 5% de significância. Medianas assinalados com (**) foram significativamente superiores pelo teste de Mann Whitney no nível de 5%.

**EC: escore corporal; EP: escore de pescoço; %_{gord}: porcentagem de gordura; GLC: glicemia; INS: concentração de insulina plasmática; RISQI: valor preditivo (*proxy*) de sensibilidade à insulina (reciprocal of the square root of insulin); MIRG: valor preditivo (*proxy*) de de secreção β-pancreática (modified insulin-to-glucose ratio); QUINT_{RISQI}: quintil de RISQI; QUINT_{MIRG}: quintil de MIRG

O grupo Caquético foi excluído das análises estatísticas por não ter atingido número mínimo de amostra (n=3). Foram realizadas as avaliações entre os demais grupos de EC. Houve diferença estatística quando analisado o escore de pescoço (p<0,01) e porcentagem de gordura (p<0,01), ambas características apresentando resultados superiores nos grupos Sobrepeso e Obeso quando comparados com os resultados obtidos em Magro e Ideal. Não houve diferença estatística quando analisados os dados de glicemia (p=0,65). Foi observada diferença estatística nas concentrações plasmáticas de insulina (p<0,01), sendo as concentrações do grupo Sobrepeso significativamente superiores às do grupo Ideal. Foi encontrada diferença estatística quando avaliada RISQI (p<0,01), sendo os valores preditivos de sensibilidade à insulina superiores em Ideal quando comparados com Sobrepeso. Foi observada diferença estatística nos resultados de MIRG (p<0,01), sendo os valores preditivos de secreção de células β-pancreáticas superior em Sobrepeso quando comparados com Ideal. Houve diferença estatística avaliando os quintis de RISQI (p<0,01), sendo que o grupo Sobrepeso teve alocação significativamente menor que o grupo Ideal. Houve diferença estatística avaliando os quintis de MIRG (p=0,02), não apresentando diferença entre os grupos. Os dados de acordo com faixa de escore se encontram descritos na Tabela 2.

Tabela 2: Médias e desvios padrão de variáveis com distribuição normal e medianas e amplitudes de valores categóricos e variáveis com distribuição não-normal de acordo com a faixa de escore corporal dos animais. Houve influência do escore corporal (EC) nos parâmetros escore de pescoço (EP), porcentagem de gordura (%_{gord}), concentração de insulina de jejum (INS), sensibilidade à insulina (RISQI), resposta β-pancreática (MIRG) e na alocação em quintis dos dados de RISQI e MIRG.

Parâmetros	Magro	Ideal	Sobrepeso	Obeso
EP (0-5)	2,0 (0,0) ^a	2,0 (2,5) ^a	3,0 (2,0) ^b	3,0 (1,0) ^b
%_{gord} (%)	9,58 (1,97) ^a	10,59 (4,37) ^a	11,46 (7,99) ^b	13,02 (6,76) ^b
GLC (mg/dl)	71,0 ± 9,17 ^A	78,2 ± 13,35 ^A	80,29 ± 13,27 ^A	73,7 ± 10,28 ^A
INS (mUI/L)	10,02 (19,39) ^{ab}	6,46 (73,89) ^a	13,42 (94,66) ^b	13,87 (25,97) ^{ab}
RISQI (mUI/L _{ins}) ^{-0,5}	0,316 (0,312) ^{ab}	0,393 (0,849) ^a	0,2725 (0,409) ^b	0,270 (0,248) ^{ab}
MIRG $U_{ins,2}/(10 \cdot L \cdot mg_{glc})$	6,24 (21,87) ^{ab}	4,59 (17,79) ^a	8,37 (16,10) ^{ab}	9,33 (13,56) ^b
QUINT_{RISQI} (1-5)	2,5 (4,0) ^{ab}	3,0 (4,0) ^a	1,0 (4,0) ^b	1,0 (3,0) ^{ab}
QUINT_{MIRG} (1-5)	4,5 (4,0) ^a	4,0 (4,0) ^a	5,0 (4,0) ^a	5,0 (1,0) ^a

*Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey no nível de 5% de significância. Medianas seguidas da mesma letra minúscula na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Dunn no nível de 5%.

**EP: escore de pescoço; %_{gord}: porcentagem de gordura; GLC: glicemia; INS: concentração de insulina plasmática; RISQI: valor preditivo (*proxy*) de sensibilidade à insulina (reciprocal of the square root of insulin); MIRG: valor preditivo (*proxy*) de secreção β-pancreática (modified insulin-to-glucose ratio); QUINT_{RISQI}: quintil de RISQI; QUINT_{MIRG}: quintil de MIRG

Quando avaliada a faixa etária (Tabela 3), não se observou diferença estatística entre os grupos quando analisado o EC (p=0,41). Também não houve diferença estatística quando avaliado escore de pescoço (p=0,14). Houve diferença estatística quando analisada a porcentagem de gordura (p=0,01), sendo que Jovem teve porcentagem significativamente menor que Adulto. Houve diferença estatística quando avaliada a glicemia (p<0,01), sendo que Jovem teve resultados significativamente maiores que Adulto e Idoso. Não foi observada diferença estatística nas concentrações de insulina (p=0,84). Não foi observada diferença estatística no valor preditivo de sensibilidade à insulina (RISQI: p=0,86). Houve diferença estatística quando analisados os resultados de MIRG (p=0,04), sendo que os valores observados em Jovem foram significativamente menores que os observados Adulto. Não houve diferença estatística entre os grupos quando avaliada a alocação dos resultados de RISQI em quintis (p=0,87) ou de MIRG (p=0,37).

Tabela 3: Médias e desvio padrão de variáveis com distribuição normal e medianas e amplitudes de valores categóricos e variáveis com distribuição não-normal de acordo com a faixa etária dos animais. Houve influência da faixa etária nos parâmetros porcentagem de gordura (%_{gord}), glicemia de jejum (GLC) e secreção β-pancreática (MIRG).

Parâmetros	Jovem	Adulto	Idoso
EC (1-9)	6,0 (4,5) ^a	6,0 (4,5) ^a	5,25 (5,0) ^a
EP (0-5)	2,5 (2,0) ^a	3,0 (2,5) ^a	3,0 (3,5) ^a
%_{gord} (%)	10,52 (5,88) ^a	11,54 (8,60) ^b	9,21 (4,51) ^{ab}
GLC (mg/dl)	82,84 ± 14,67 ^A	75,35 ± 10,33 ^B	68,23 ± 11,26 ^B
INS (mUI/L)	10,06 (96,09) ^a	11,34 (97,41) ^a	11,03 (18,18) ^a
RISQI (mUI/L _{ins}) ^{-0,5}	0,316 (0,622) ^a	0,302 (0,863) ^a	0,301 (0,179) ^a
MIRG U _{ins} 2/(10.L.mg _{glic})	4,91 (14,99) ^a	7,66 (21,87) ^b	7,81 (7,83) ^{ab}
QUINT_{RISQI} (1-5)	2,0 (4,0) ^a	1,0 (4,0) ^a	2,5 (4,0) ^a
QUINT_{MIRG} (1-5)	5,0 (4,0) ^a	5,0 (4,0) ^a	5,0 (4,0) ^a

*Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey no nível de 5% de significância. Medianas seguidas da mesma letra minúscula na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Dunn no nível de 5%.

**EC: escore corporal; EP: escore de pescoço; %_{gord}: porcentagem de gordura; GLC: glicemia; INS: concentração de insulina plasmática; RISQI: valor preditivo (*proxy*) de sensibilidade à insulina (reciprocal of the square root of insulin); MIRG: valor preditivo (*proxy*) de secreção β-pancreática (modified insulin-to-glucose ratio); QUINT_{RISQI}: quintil de RISQI; QUINT_{MIRG}: quintil de MIRG

Os grupos Extensivo e Intensivo foram comparados entre si (Tabela 4). Os dados de EC do grupo Intensivo foi significativamente superior quando comparado com Extensivo (p<0,01). Os dados de EP de Intensivo foi significativamente superior quando comparado a Extensivo (p<0,01). A porcentagem de gordura foi significativamente maior em Intensivo quando comparado com Extensivo (P<0,01). Não houve diferença estatística quando comparados os dados de glicemia dos dois grupos (p= 0,13). Os dados de concentração plasmática de insulina de Intensivo foram significativamente superiores aos de Extensivo (p<0,01). RISQI foi significativamente superior em Extensivo quando comparado a Intensivo (p<0,01). MIRG foi significativamente superior em Intensivo quando comparado a Extensivo (p<0,01). O grupo Extensivo teve alocação em quintil de RISQI significativamente maior que o grupo Extensivo (p<0,01). O grupo Extensivo obteve quintil significativamente menor de MIRG que Intensivo (p<0,01).

Tabela 4: Médias e desvios padrão de variáveis com distribuição normal e medianas e amplitudes de valores categóricos e variáveis com distribuição não-normal de acordo com o sistema de criação dos animais. Houve influência do sistema de criação nos parâmetros escore corporal (EC), escore de pescoço (EP), porcentagem de gordura (%_{gord}), concentração de insulina de jejum (INS), sensibilidade à insulina (RISQI), resposta β-pancreática (MIRG) e na alocação dos dados em quintis de RISQI e MIRG.

Parâmetros	Extensivo	Intensivo
EC (1-9)	5,0 (6,0)	6,5 (3,0)**
EP (0-5)	2,5 (3,0)	3,0 (2,5)**
%_{gord} (%)	10,52 (8,22)	11,46 (8,22)**
GLC (mg/dl)	76,33 ± 11,52	80,19 ± 13,72
INS (mUI/L)	8,00 (21,99)	17,50 (93,53)**
RISQI (mUI/L _{ins}) ^{-0,5}	0,356 (0,756)**	0,239 (0,347)
MIRG $U_{ins,2}/(10.L.mg_{glic})$	4,76 (22,16)	8,55 (17,18)**
QUINT_{RISQI} (1-5)	3,5 (4,0)**	1,0 (3,0)
QUINT_{MIRG} (1-5)	4,0 (4,0)	5,0 (4,0)**

Médias assinalados com () foram significativamente superiores pelo teste t no nível de 5% de significância. Medianas assinalados com (**) foram significativamente superiores pelo teste de Mann Whitney no nível de 5%.

**EC: escore corporal; EP: escore de pescoço; %_{gord}: porcentagem de gordura; GLC: glicemia; INS: concentração de insulina plasmática; RISQI: valor preditivo (*proxy*) de sensibilidade à insulina (reciprocal of the square root of insulin); MIRG: valor preditivo (*proxy*) de secreção β-pancreática (modified insulin-to-glucose ratio); QUINT_{RISQI}: quintil de RISQI; QUINT_{MIRG}: quintil de MIRG

5. DISCUSSÃO

O dimorfismo sexual conspícuo é uma característica observada em diferentes espécies de animais superiores e tem característica poligênica (LANDE, 1980). Em cavalos da raça Mangalarga Marchador, o dimorfismo sexual pode ser observado desde potros, provavelmente pelas medidas zootécnicas utilizadas para seleção dos animais à época do registro definitivo na associação da raça (PINTO et al., 2005). Os valores significativamente mais elevados em garanhões quando comparados com éguas em escore corporal (EC) e escore de pescoço (EP) com resultados estatisticamente semelhantes da porcentagem de gordura corporal sugerem características relacionadas ao dimorfismo sexual (MARTIN-GIMENEZ et al., 2016; SÁNCHEZ et al., 2016), enquanto a porcentagem de gordura prevê um dado mais preciso individualmente da adiposidade.

Somado aos fatores morfométricos, a glicemia superior em machos sem diferença significativa na insulinemia, sensibilidade à insulina e secreção β -pancreática pode ser um indício de mecanismo semelhante ao observado em humanos no metabolismo energético, onde mulheres utilizam prioritariamente ácidos graxos musculares e homens carboidratos e ácidos graxos plasmáticos como substrato para função muscular, tendo os hormônios gonadotróficos influência inclusive na taxa de ressíntese do glicogênio muscular durante exercício aeróbico (PARAVIDINO et al., 2007). Também é observado em garanhões, aspecto pulsátil de GH, um hormônio sabidamente glicemiante, mais frequente do que em éguas (STEWART; GOODE; ALLEN, 1993). Os achados de níveis de creatinoquinase (CK) e aspartato aminotransferase (AST) e sinais clínicos de dor muscular em potrancas (HARRIS et al., 1998) e de rabdomiólise de exaustão (JOHLIG et al., 2011) podem estar relacionados a essa influência de hormônios gonadotróficos no metabolismo energético relacionado ao exercício. Em correlação à fisiologia energética, pode haver a influência de hormônios gonadotróficos no aparecimento de distúrbios desta homeostase. Em mulheres, foi demonstrado que progestágenos interferem na sensibilidade à insulina através da suplementação de estrógenos sintéticos isolados e estrógenos associados a progestágenos em mulheres pós-menopausa (LINDHEIM et al., 1994) e em cavalos pode-se observar esse efeito quando comparados éguas com animais castrados (PRATT et al., 2006). Há maior ocorrência de laminite aguda ou crônica, sem histórico prévio de sepsis ou cólica, em éguas quando comparadas a garanhões (ALFORD et al., 2001). Sabe-se alterações de ciclo reprodutivo em éguas frequentemente são associadas a alterações no metabolismo de insulina (VICK et al., 2006). Em éguas que apresentam esse tipo de alteração, pode ser encontrado o quadro de laminite sem fator predisponente (STASHAK, 1994).

A escala de escore corporal de equinos (HENNEKE et al., 1983) é uma medida subjetiva que depende do treinamento do observador. Ela é considerada a forma mais prática para uso ao campo da determinação de adiposidade, pois não é necessário nenhum outro equipamento para realização, só o treinamento prévio do avaliador. Apesar de sua aplicabilidade universal, há a tendência de diminuição de precisão conforme a adiposidade/escore do animal cresce (DUGDALE et al., 2012), sendo utilizadas outros métodos complementares específicos para estimar a adiposidade com maior precisão em animais obesos, caso se faça necessário. De toda forma, há correlação entre as diversas formas de avaliação objetiva com a escala de escore corporal (GENTRY et al., 2004; CARTER et al., 2009a; DUGDALE et al., 2012; SILVA et al., 2014) assim como a relação entre escore de pescoço (CARTER et al., 2009a; SILVA et al., 2012).

Em um estudo anterior, não foi achada diferença na sensibilidade à insulina ou secreção β -pancreática entre animais magros e em escore ideal (MELLO et al., 2009) mas, devido ao número limitado de animais participantes, questões como homogeneidade de

grupos como raça (BAMFORD et al., 2014), sexo (PRATT et al., 2006) e idade (MALINOWSKI et al., 2002) pode ter havido interferências nos resultados obtidos. As ligeiras quedas de sensibilidade à insulina e maior secreção β -pancreática observadas no grupo Magro são achados que se assemelham com o que ocorre no processo crônico de fome (WITHAM; STULL, 1998). Infelizmente, devido a questões de ordem técnica, não houve possibilidade de comparar animais em estado caquético com os demais grupos, onde seriam esperadas alterações mais pronunciadas.

O fator escore corporal pode interferir na dinâmica de glicose e insulina. Animais que apresentam obesidade têm concentração de insulina maiores quando comparados com animais que apresentam sobrepeso ou escore ideal, tendo índices de secreção β -pancreática maiores devido à depuração da glicose mediada por ela mesma, tanto em condições de dieta de alto quanto de baixo índice glicêmico (HOFFMAN et al., 2003). Os resultados obtidos demonstram que também pode ser observado uma maior sensibilidade à insulina em animais de escore ideal quando comparados com animais com sobrepeso em animais criados a pasto de gramíneas tropicais ou suplementados com ração comercial a base de grãos ricos em amidos. Os resultados não significativos de sensibilidade à insulina no grupo Obeso podem ter sido influenciados pelo número restrito de animais do grupo (n= 8). De qualquer forma, a não diferença de sensibilidade à insulina dos animais obesos com maior secreção β -pancreática sugere mecanismo de compensação na dinâmica de sensibilidade à insulina.

A idade demográfica é o índice de sobrevivência relativa a uma população, enquanto a idade fisiológica é uma característica individual (PARADIS, 2002). Após a idade puberal, mudanças relacionadas à função dos animais acontecem, assim como alterações fisiológicas nas dinâmicas reprodutivas. Esse fator pode estar relacionado ao aumento de porcentagem de gordura em animais adultos, como fonte de reserva energética para a dinâmica reprodutiva e maior demanda energética para formação de conceito (AMANN et al., 1979, JONES; BERNDTSON, 1986, CARNEVALE et al., 1993, MOREL; NEWCOMBE; SWINDLEHURST, 2005). De maneira geral, animais utilizados na reprodução já tiveram vida atlética consolidada, dando resultados positivos que serão passados à progênie. A idade da égua está inversamente relacionada a capacidade reprodutiva (CARNEVALE et al., 1993, MOREL; NEWCOMBE; SWINDLEHURST, 2005) e dados publicados demonstram duas fases distintas durante o processo de envelhecimento diminuindo a taxa de múltipla ovulação e de fertilidade conforme o aumento da idade (MOREL; NEWCOMBE; SWINDLEHURST, 2005). O envelhecimento também vai influenciar a quantidade de células de Sertoli e germinativas em garanhões, mas não tendo impacto sobre viabilidade final de ejaculado (AMANN et al., 1979, JONES; BERNDTSON, 1986).

Durante a vida, a taxa metabólica oscila de maneira intrínseca, devido a taxa basal metabólica, e dependendo do tipo de função que o animal é submetido. Um hormônio que regula taxa metabólica é o hormônio de crescimento (GH). Ele está relacionado ao metabolismo de carboidratos nos vertebrados e tem resposta antagônica à insulina durante jejum (ROTH et al., 1963), com ação glicemiante. Em equinos, ele tem um comportamento pulsátil, sendo encontrado em maiores concentrações circulantes em potros do que em adultos (STEWART et al., 1993). O resultado de glicemia significativamente superior no grupo Jovem é semelhante ao encontrado em potros não-desmamados quando comparados a animais adultos (MURPHY; REID; LOVE, 1997). A ação do GH, associada a uma taxa de secreção β -pancreática menor no grupo Jovem quando compara aos demais grupos e sensibilidade à insulina semelhante ao grupo Adulto pode explicar a glicemia mais elevada na faixa etária. Animais jovens têm alta taxa de processos metabólicos energeticamente dispendiosos, como o metabolismo ósseo (PRICE et al., 1995), o que pode levar aos menores depósitos de gordura observados no presente estudo quando comparados com animais adultos. A maior concentração de insulina associado ao valor preditivo de secreção β -pancreática aumentado

com manutenção de níveis de glicemia e valor preditivo de sensibilidade à insulina ao hormônio demonstra um processo de compensação na sensibilidade ao hormônio. Os resultados obtidos no presente estudo corroboram com os encontrados por Malinowski et al. (2002), onde animais idosos tiveram maiores concentrações de insulina comparados aos que encaixam na faixa etária de animais adultos. Este fator, como outros de impacto à saúde animal, pode estar associado ao processo de senescência (PARADIS et al., 2002).

A restrição de exercícios e manejo alimentar com suplementação de concentrados energéticos estão relacionados ao quadro de obesidade e Síndrome Metabólica Equina na espécie (JOHNSON, 2002). A restrição de exercício junto com a suplementação energética dos animais em sistema intensivo pode ter propiciado os achados maiores de porcentagem de gordura e escore quando comparados com animais em sistema extensivo. O aporte energético do concentrado com a restrição de exercício leva a um quadro de balanço positivo de ingesta calórica.

A rusticidade da raça MM possibilita a criação de forma extensiva e com única fonte de alimentação, o pasto (ABCCMM, 2016). Em uma população de cavalos selvagens foi observado que a maior porcentagem da população observada em vida livre se encontrava no intervalo de 2-2,5 em uma escala de 1 a 5 (ZABEK et al., 2016), resultado semelhante ao encontrado em animais em criação em sistema extensivo. Vale ressaltar, que na avaliação de escore, animais criados em sistema extensivo apresentaram abdome mais abaulado à inspeção, mas menor quantidade de depósitos de gordura à palpação, fortalecendo a necessidade de um exame criterioso e abrangendo as duas semiotécnicas durante o procedimento (HENNEKE et al., 1983, FEITOSA, 2008).

Em exercícios leves a moderados em equinos, os principais substratos utilizados são os lipídeos (VOTION et al., 2008, MELLO, 2012) enquanto glicídeos são utilizados em exercícios de alta intensidade (HINCHCLIFF; GEOR, 2004, MELLO, 2012), tendo a espécie taxa de ressíntese de glicogênio muscular em equinos é lenta, sendo o fator limitante a absorção pós-prandial de carboidratos (WALLER; LINDINGER, 2010). O exercício tem efeito direto na taxa de glicose captada de forma independente da insulina, aumentando a sensibilidade do organismo ao hormônio. É sabido que a composição da dieta associado aos níveis de atividades dos animais é um fator determinante para a manutenção dos níveis de sensibilidade à insulina (QUINN et al., 2008) e que as concentrações circulantes de insulina encontradas em animais com dietas ricas em carboidratos solúveis são maiores do que as observadas em animais com dietas a base de fibras vegetais (JOSE-CUNILLERAS et al., 2006; TREIBER et al, 2006a). O presente estudo não utilizou animais em atividade atlética ou em uma rotina de condicionamento físico que influencia as taxas de função insulínica (MELLO, 2012). O exercício *ad libitum* dos animais do grupo Extensivo somado a dieta estritamente a base de gramíneas de clima tropical de baixa concentração de CNE pode ter influenciado os níveis maiores de sensibilidade à insulina dos animais quando comparados ao grupo Intensivo.

Uma das raças de raiz de formação do Mangalarga Marchador é o Andaluz. Em um estudo sobre sensibilidade à insulina, animais da raça demonstraram ter parâmetros de sensibilidade à insulina semelhantes a pôneis, ambos apresentando valores de sensibilidade à insulina significativamente inferiores que cavalos Standardbred (BAMFORD et al., 2014). A raça Andaluz também apresenta tendência a desenvolver sobrepeso e obesidade e ser acometida por SME (MARTIN-GIMENEZ et al., 2016). No presente estudo, encontrou-se de forma majoritária, animais se enquadrando em quintil 3 de RISQI, considerado médio do valor preditivo de sensibilidade à insulina, com exceção de quando observado a influência do EC dos animais sobre a variável onde animais com sobrepeso e obesos se encontravam em quintil 1, quadro de franca resistência à insulina, mas sempre mantendo uma exigência de secreção β -pancreática alta, demonstrada pela frequência de quintis 4 e 5 do valor preditivo de

MIRG. Esse dado está relacionado a uma compensação pancreática devido à desafio glicêmico (MELLO, 2012). A utilização de testes “padrão-ouro” pode ajudar a determinar esse comportamento de sensibilidade à insulina na raça, ajudando futuramente o clínico atuante a prever possíveis complicações relacionadas a quadros associados a resistência à insulina, como a SME, já que o quadro pode ser confundido com outros distúrbios hormonais, como hipotireoidismo e Síndrome de Cushing (JOHNSON et al., 2010).

6. CONCLUSÕES

Os fatores sexo e idade influenciam na taxa glicêmica de cavalos da raça MM.

São observadas alterações da função da insulina em equinos da raça MM, sofrendo influência da deposição de gordura, idade e sistema de criação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBERTI KG, ZIMMET PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus: provisional report of a WHO consultation. **Diabetic Medicine**. v.15, n. 7, p.539–553, 1998
- ALFORD, P.; GELLER, S.; RICHARDSON, B.; SLATER, M.; HONNAS, C.; FOREMAN, J.; ROBINSON, J.; MESSER, M.; ROBERTS, M.; GOBLE, D.; HOOD, D.; CHAFFIN, M. A multicenter, matched case-control study of risk factors for equine laminitis **Preventive Veterinary Medicine** v. 49, n. 3–4, p. 209-222, 2001
- AMANN, R. P.; THOMPSON, D.L. JR; SQUIRES, E. L.; PICKETT, B. W. Effects of age and frequency of ejaculation on sperm production and extragonadal sperm reserves in stallions. **Journal of Reproduction Fertility Supplement** v. 27, p. 1-6, 1979
- ARRUDA, A. M. V.; RIBEIRO, L. B.; PEREIRA, E. S.; BARRETO, J. C. Fracionamento dos nutrientes e digestibilidade da energia em alimentos alternativos com equinos adultos **Caatinga** v.21, n.1, p.01-10, 2008
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE CAVALO MANGALARGA MARCHADOR, **ABCCMM** 2016 disponível em <http://www.abccmm.org.br/> (acessado em 14/09/2016)
- BAMFORD, N. J.; POTTER, S. J.; HARRIS, P. A.; BAILEY, S. R. Breed differences in insulin sensitivity and insulinemic responses to oral glucose in horses and ponies of moderate body condition score **Domestic Animal Endocrinology** v. 47, p. 101-107, 2014
- BAMFORD, N. J.; POTTER, S. J.; HARRIS, P. A.; BAILEY, S. R. Effect of increased adiposity on insulin sensitivity and adipokine concentrations in horses and ponies fed a high fat diet, with or without a once daily high glycaemic meal **Equine Veterinary Journal** v. 48, p. 368–373, 2016
- BODEN, G.; HOMKO, C.; BARRERO, C. A.; STEIN, T. P.; CHEN, X.; CHEUNG, P.; FECCHIO, C.; KOLLER, S.; MERALI, S. Excessive caloric intake acutely causes oxidative stress, GLUT4 carbonylation, and insulin resistance in healthy men **Science Translational Medicine** v. 7, n. 304, p. 304re7, 2015
- BORER-WEIR, K. E; MENZIES-GOW, N. J.; BAILEY, S. R.; HARRIS, P. A.; ELLIOTT, J. Seasonal and annual influence on insulin and cortisol results from overnight dexamethasone suppression tests in normal ponies and ponies predisposed to laminitis **Equine Veterinary Journal** v. 45, n. 6, p. 688–693, 2013
- CARNEVALE, E. M.; BERGFELT, D.R.; GINTHER, O.J. Aging effects on follicular activity and concentrations of FSH, LH, and progesterone in mares **Animal Reproduction Science** v. 31, n. 3–4, p. 287-299, 1993
- CARTER, R. A. **Thyroid status in exercising horses and laminitic ponies** 2005 99f. Tese (Mestrado em Animal Sciences and Poultry Sciences) Department of Animal and Poultry Sciences, Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, 2005

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

CARTER, R. A.; TREIBER, K. H.; GEOR, R. J.; DOUGLAS, L.; HARRIS, P. A. Prediction of incipient pasture-associated laminitis from hyperinsulinemia, hyperleptinemia and generalized and localized obesity in a cohort of ponies **Equine Veterinary Journal** v. 41, n. 2, p. 171-178, 2009b

CHATTERTON, N. J.; HARRISON, P. A.; BENNETT, J. H.; ASA, K. H. Carbohydrate partitioning in 185 accessions of *Gramineae* grown under warm and cool temperatures **Journal of Plant Physiology** v. 134, p. 169-179, 1989

COOPER, J. J.; MASON, G. J. The identification of abnormal behavior and behavioral problems in stabled horses and their relationship to horse welfare: a comparative review **Equine Veterinary Journal Supplement** n. 27, p. 5-9, 1998

COSTA, M.D.; BERGMANN, J.A.G.; RESENDE, A.S.C.; FONSECA, C.G.; FARIA, F.J.C. Análise temporal da endogamia e do tamanho efetivo da população de equinos da raça Mangalarga Marchador **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** v.57, n.1, p.112-119, 2005b

COSTA, M.D.; BERGMANN, J.A.G.; RESENDE, A.S.C.; FONSECA, C.G.; FARIA, F.J.C. Estudo da subdivisão genética da raça Mangalarga Marchador **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, n.2, p.272-280, 2005a

DUGDALE, A. H. A.; GROVE-WHITE, D.; CURTIS, G. C.; HARRIS, P. A.; ARGO, C. M. C. G. Body condition scoring as a predictor of body fat in horses and ponies **The Veterinary Journal** v. 194, n 2, p. 173-178, 2012

DUNBAR, L. K.; MIELNICKI, K. A.; DEMBEK, K. A.; TORIBIO, R. E.; BURNS, T. A. Evaluation of four diagnostic tests for insulin dysregulation in adult light-breed horses **Journal of Veterinary Internal Medicine** v. 30, n. 3, p. 885-892, 2016

DURHAM, A. E. Metformin in equine metabolic syndrome: An enigma or a dead duck – Guest Editorial **The Veterinary Journal** v.191, p. 17–18, 2012

DURHAM, A. E.; RENDLE, D. I.; NEWTON, J. R. The effect of metformin on measurements of insulin sensitivity and β cell response in 18 horses and ponies with insulin resistance **Equine Veterinary Journal** v. 40, n. 5, p. 493-500, 2008

ECKERSALL, P. D. Proteins, proteomics, and the dysproteinemias in clinical biochemistry of domestic animals In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. (6ª edição) **Clinical Biochemistry of Domestic Animals** San. Diego: Academic Press, 2008, p. 117-151

FEITOSA, F. L. F. Introdução à semiologia In: FEITOSA, F. L. F. (2ª edição) **Semiologia Veterinária – a arte do diagnóstico** São Paulo: Editora ROCA 2008, p. 1-27

FLORES-RIVEROS, J. R.; McLENITHAN, J. C.; EZAKI, O.; LANE, M. D. Insulin down-regulates expression of the insulin-responsive glucose transporter (GLUT4) gene: Effects on

transcription and mRNA turnover **Proceedings of the National. Academy of Sciences of the United States of America – Biochemistry** v. 90, p. 512-516, 1993

FRANK, N.; GEOR, R. J.; BAILEY, S. R.; DURHAM, A. E.; JOHNSON P. J. Equine Metabolic Syndrome **Journal of Veterinary Internal Medicine** v.24, p.467–475, 2010

FRANK, N.; TADROS, E. M. Insulin dysregulation **Equine Veterinary Journal** v. 46, p. 103–112, 2014

FRAPE, D. Estimando os requerimentos de nutrientes In: FRAPE, D., (3ª edição) **Nutrição e Alimentação de Equinos** São Paulo: Editora ROCA, 2007, p.175-228

FUNK, R. A.; WOOLDRIDGE, A. A.; STEWART, A. J., BEHREND, E. N.; KEMPPAINEN, R. J.; ZHONG, Q.; JOHNSON, A. K. Seasonal changes in the combined glucose-insulin tolerance test in normal aged horses **Journal of Veterinary Internal Medicine** v. 26, n. 4, p. 1035–1041, 2012

GEFFRÉ, A.; CONCORDET, D.; BRAUN, J. P.; TRUME, C. Reference Value Advisor: a new freeware set of macroinstructions to calculate reference intervals with Microsoft Excel **Veterinary Clinical Pathology** v. 40, n. 1, p. 107-112, 2011

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

GEOR, R. J. Current concepts on the pathophysiology of pasture-associated laminitis **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice** v. 26, n. 2, p. 265–276, 2010

HARRIS, P. A.; MARLIN, D. J.; GRAY, J. Plasma aspartate aminotransferase and creatine kinase activities in thoroughbred racehorses in relation to age, sex, exercise and training **The Veterinary Journal** v. 155, p. 295-304, 1998

HENNEKE, D. R POTTER, G. D.; KREIDER, J. L.; YEATES, B. F. Relation between condition score, physical measurements and body fat percentage in mares. **Equine Veterinary Journal**, v. 15, p. 371-372, 1983

HESS, T. M.; KRONFELD, D. S.; TREIBER ,K. H.; CRANDELL,K. E.; WALDRON, J. N.; WILLIAMS,C. A.; STANIAR, W. B.; LOPES, M. A.; HARRIS, P. A. Fat adaptation affects insulin sensitivity and elimination of horses during an 80 km endurance ride. **Pferdeheilkunde** v.23, n.3, p.241-246, 2007

HINCHCLIFF, K. W. e GEOR, R. J. Integrative physiology of exercise In: HINCHCLIFF, K. W. e GEOR, R. J (1ª edição) **Equine Sports Medicine and Surgery**. Editora Saunders, 2004, p. 3-8

HOFFMAN, R. M.; BOSTON, R. C., STEFANOVSKI; KRONFELD, D. S.; HARRIS, Obesity and diet affect glucose dynamics and insulin sensitivity in Thoroughbred geldings. **Journal of Animal Sciences** v.81, p.2333-2342, 2003

JOHLIG, L.; VALBERG, S. J.; MICKELSON, J. R.; KLUKOWSKA, J.; REUSSER, H. R.; STRAUB, R.; GERBER, V. Epidemiological and genetic study of exertional rhabdomyolysis in a Warmblood horse family in Switzerland **Equine Veterinary Journal** v. 43, n. 2, p. 240–245, 2011

JOHNSON, P. J.; MESSER, N. T.; GANJAM, V. K. Cushing's syndromes, insulin resistance and endocrinopathic laminitis **Equine Veterinary Journal** v. 36, n. 3, p. 194-198, 2004

JOHNSON, P. J.; WIEDMEYER, C. E.; LaCARRUBBA, A.; GANJAM, V. K.; MESSER, N. T. Laminitis and the Equine Metabolic Syndrome **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice** v. 26, n. 2, p. 239-255, 2010

JOHNSON, P.J. The equine metabolic syndrome Peripheral Cushing's syndrome. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**. v.18, n.2, p. 271-93, 2002

JOHNSON; P. J.; GANJAM, V. K.; MESSER, N. T.; TURK, J. R.; KEISLER, D. H.; BUFF, P. R.; WIEDMEYER, C. E. The obesity paradigm: an introduction to the emerging discipline of adipobiology. Proceedings of the 52nd Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners; p. 41-50. 2006

JONES, L. S.; BERNDTSON, W. E. A quantitative study of Sertoli cell and germ cell populations as related to sexual development and aging in the stallion **Biology of Reproduction** v. 35, p. 138-148, 1986

JOSE-CUNILLERAS, E.; HINCHCLIFF, K. W.; LACOMBE, V. A. SAMS, R.A.; KOHN, C.W.; TAYLOR, L.E.; DEVOR, S.T. Ingestion of starch-rich meals after exercise increases glucose kinetics but fails to enhance muscle glycogen replenishment in horses. **The Veterinary Journal**, v.171, p.468–477, 2006

KEREM, N.; GUTTMANN, H.; HOCHBERG, Z. The autosomal trait of obesity, acanthosis nigricans, hypertension, ischemic heart disease and diabetes type 2 **Hormone Research** v. 55, p. 298-304, 2001

KRONFELD, D. S. Equine Syndrome X, the Metabolic Disease, and Equine Grain-Associated Disorders: Nomenclature and Dietetics. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.23, n. 12, p.567-569, 2003

LANDE, R. Sexual dimorphism, sexual selection, and adaptation in polygenic characters **Evolution** v. 34, n. 2, p. 292-305, 1980

LINDHEIM, S. R.; DUFFY, D. M.; KOJIMA, T.; VIJOD, M. A.; STANCZYK, F. Z.; LOBO, R. A. The route of administration influences the effect of estrogen on insulin sensitivity in postmenopausal women **Fertility and Sterility** v. 62, n. 6, p. 1176-1180, 1994

MALINOWSKI, K.; BELTROS, C. L.; FLORA, L.; KEARNS, C. F.; McKEEVER, K. H. Effect of training on age-related changes in plasma insulin and glucose **Equine Veterinary Journal** v. 34, n. S34, p. 147-153, 2002

MARTIN-GIMENEZ, T.; DE BLAS, I.; AGUILERA-TEJERO, E.; DIEZ DE CASTRO, E.; AGUIRRE-PASCASIO, C. N. Endocrine, morphometric, and ultrasonographic

characterization of neck adiposity in Andalusian horses **Domestic Animal Endocrinology** v. 56, p. 57-62, 2016

McAFEE, L. M.; MILLS, D. S.; COOPER, J. J. The use of mirrors for the control of stereotypic weaving behaviour in the stabled horse **Applied Animal Behaviour Science** v. 78, n2-4, p. 158-173, 2002

McDONNELL, S. M. Behaviour of horses In: JENSENS, P. (1ª edição) **The Ethology of Domestic Animals – An Introductory Text** Oxfordshire: Editora CABI Pub, 2002 p.119-130

MELLO, E B F R B, **Adaptação ao exercício em potros puro-sangue inglês de corrida** 2012. 54 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária. UFRRJ, Seropédica, 2012

MELLO, E. B. F. R. B.; HESS, T. M.; TURNER, S. P.; SOUZA, B. G.; STELMANN, U. J. P.; SILVA, A. M. G. B; ALMEIDA, F. Q. Comparação da sensibilidade à insulina entre cavalos magros e normais **Revista Oficial do Conselho Regional de Medicina Veterinária e Zootecnia – MG (suplemento)** v. 100, p. 115, 2009

MOREL, M. C. G. D.; NEWCOMBE, J. R.; SWINDLEHURST, J. C. The effect of age on multiple ovulation rates, multiple pregnancy rates and embryonic vesicle diameter in the mare **Theriogenology** v.63, p. 2482–2493, 2005

MURPHY, D.; REID, S. W.; LOVE, S. The effect of age on the oral glucose tolerance test in ponies **Equine Veterinary Journal** v. 29, n. 6, p. 467-170, 1997

NATIONAL ANIMAL HEALTH MONITORING SYSTEM, UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE Equine 2005. National health monitoring system, part 1: baseline reference of equine health and management. **NAHMS USDA** Colorado – EUA, p.1-148, 2006

PARADIS, M. R. Demographics of health and disease in the geriatric horse **The Veterinary Clinics, Equine Practice** v. 18, p. 391–401, 2002

PARAVIDINO, A. B.; PORTELLA, E. S.; SOARES, E. A. Metabolismo energético em atletas de endurance é diferente entre os sexos **Revista de Nutrição**, v. 20, n. 3, p. 317-325, 2007

PINTO, L. F. B.; ALMEIDA, F. Q.; QUIRINO, C. R.; CABRAL, G. C.; AZEVEDO, P. C. N.; SANTOS, E. M. Análise multivariada das medidas morfométricas de potros da raça Mangalarga Marchador: análise discriminante **Revista Brasileira de Zootecnia** v.34, n.2, p.600-612, 2005

PRATT, S. E.; GEOR, R. J.; McCUTCHEON, L. J. Effects of dietary energy source and physical conditioning on insulin sensitivity and glucose tolerance in Standardbred horses. **Equine Veterinary Journal Supplement** v.36, p. 579-84, 2006

PRICE, J. S.; JACKSON, B.; EASTEL, R.; GOODSHIP, A. E.; BLUMSOHN, A.; WRIGHT, I.; STONEHAM, S.; LANYON, L. E.; RUSSEL, R. G. G. Age related changes in

biochemical markers of bone metabolism in horses **Equine Veterinary Journal** v. 27, n. 3, p. 201-207, 1995

QUINN, R. W.; BURK, A. O.; HARTSOCK, T. G.; PETERSEN, E. D.; WHITLEY, N. C.; TREIBER, K. H.; BOSTON, R. C. Insulin sensitivity in Thoroughbred geldings: effect of weight gain, diet, and exercise on insulin sensitivity in Thoroughbred geldings **Journal of Equine Veterinary Sciences** v. 28, n. 12, p. 728-738, 2008

RENDLE, D. I.; RUTLEDGE, F.; HUGHES, K. J.; HELLER, J.; DURHAM, A. E. Effects of metformin hydrochloride on blood glucose and insulin responses to oral dextrose in horses **Equine Veterinary Journal** v.45, p. 751-754, 2013

ROTH, J.; GLICK, S. M.; YALOW, R. S.; BERSON, S. A. Hypoglycemia: a potent stimulus to secretion of growth hormone **Science** v. 140, n. 3570, p. 987-988, 1963

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

SILVA, S. R.; GUEDES, C. M.; COUTO, P.; SANTOS, A. S.; MELO-PINTO, P. Relationship between body condition and neck crest score systems and subcutaneous fat, tissue and muscle ultrasonic measurements in horses **Annual Research & Review in Biology** v. 4, n. 2, p. 354-365, 2014

SILVA, S. R.; GUEDES, C. M.; COUTO, P.; SANTOS, A. S.; MELO-PINTO, P. Relationship between body condition and neck crest score systems and subcutaneous fat, tissue and muscle ultrasonic measurements in horses In: **Forages and grazing in horse nutrition**, v. 132 Wageningen: Editora Wageningen Academic Publishers 2012, p. 381-386

STASHAK, T. Claudicação In: STASHAK, T. S. (4ª edição) **Claudicação em Equinos segundo Adams** São Paulo: Editora ROCA, 1994, p. 503-821

STEWART, F.; GOODE, J. A.; ALLEN, W. R. Growth hormone secretion in the horse: unusual pattern at birth and pulsatile secretion through maturity **Journal of Endocrinology** v.138, p. 81-89, 1993

THATCHER, C. D.; PLEASANT, R. S.; GEOR, R. J.; ELVINGER, F. Prevalence of overconditioning in mature horses in southwest Virginia during the summer **Journal of Veterinary Internal Medicine**, 2012

TINWORTH, K. D.; BOSTON, R. C.; HARRIS, P. A.; SILENCE, M. N.; RAIDAL, S. L.; NOBLE, G. K. The effect of oral metformin on insulin sensitivity in insulin-resistant ponies **The Veterinary Journal** v. 191, n. 1, p. 79-84, 2012

TREIBER, K. H.; HESS, T. M.; KRONFELD BOSTON, R.C.; GEOR, R.J.; FRIERE, M.; SILVA, A.M.G.B; HARRIS, P.A. Glucose dynamics during exercise: Dietary energy sources affect minimal model parameters in trained Arabian geldings during endurance exercise. **Equine Veterinary Journal**, v.36, p. 631-636, 2006c

TREIBER, K. H.; KRONFELD, D. S.; GEOR, R. J. Insulin resistance in equids: possible role in laminitis. **Journal of Nutrition** v. 136; p. 2094S–2098S; 2006b

TREIBER, K. H.; KRONFELD, D. S.; HESS, T. . M.; BOSTON, R. C.; HARRIS, P. A. Use of proxies and reference quintiles obtained from minimal model analysis for determination of insulin sensitivity and pancreatic beta-cell responsiveness in horses. **American Journal of Veterinary Research** v.66, n.12, p.2114-2121, 2005

TREIBER, K. H.; KRONFELD, D. S.; HESS, T. M.; BYRD, B. M.; SPLAN, R. K.; STANIAR, W. B. Evaluation of genetic and metabolic predispositions and nutritional risk factors for pasture-associated laminitis in ponies **Journal of American Veterinary Medicine Association**, v. 228, n. 10, 1538-1545, 2006a

TURNER, S. P. **Avaliação da sensibilidade à insulina em equinos de uso militar** 2009 54f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. UFRRJ, Seropédica, 2009

VICK, M. M.; ADAMS, A. A.; MURPHY, B. A.; SESSIONS, D. R.; HOROHOV, D. W.; COOK, R. F.; SHELTON, B. J.; FITZGERALD, B. P.. Relationships among inflammatory cytokines, obesity, and insulin sensitivity in the horse. **Journal of Animal Sciences** v.85, p.1144-1155, 2007

VICK, M. M.; SESSIONS, D. R.; MURPHY, B. A.; KENNEDY, E. L.; REEDY, S. E.; FITZGERALD, B. P. Obesity is associated with altered metabolic and reproductive activity in the mare: effects of metformin on insulin sensitivity and reproductive cyclicity **Reproduction, Fertility and Development** v.18, p.609–617, 2006

VOTION, D. M.; NAVET, R.; LACOMBE, V. A.; SLUSE, F.; GUSTAVSSON, B. E.; HINCHCLIFF, K. W.; RIVERO, J. L. L.; VALBERG, S. Muscle energetics in exercising horses **Equine and Comparative Exercise Physiology** v. 4, p. 105-118, 2008

WALLER, A. P.; LINDINGER, M. I. Nutritional aspects of post exercise skeletal muscle glycogen synthesis in horses: A comparative review **Equine Veterinary Journal** v. 42, n. 3, p. 274-281, 2010

WATTS, K. A. Forage and pasture management for laminitic horses **Clinical Techniques in Equine Practice** v. 3, n. 1, p. 88-95, 2004

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

WILCOX, G. Insulin and Insulin Resistance. **Clinical Biochemistry Review** v.26, p.19-39, 2005

WITHAM, C. L.; STULL, C. L. Metabolic responses of chronically starved horses to refeeding with three isoenergetic diets **Journal of American Veterinary Medicine Association** v. 212, n. 5, 1998

WORLD HEALTH ORGANIZATION Definition, diagnosis and classification of Diabetes Mellitus and its complications **WHO**, Genebra – Suíça, p. 1-66, 1999

WORLD HEALTH ORGANIZATION Obesity **WHO**, 2012 disponível em <http://www.who.int/topics/obesity/en/>, acessado em 24/02/2016

WYSE, C. A.; McNIE, K. A.; TANNAHIL, V. J.; MURRAY, J. K.; LOVE, S. Prevalence of obesity in riding horses in Scotland **Veterinary Record** v. 162, n. 18, p. 590-591, 2008

ZABEK, M. A.; BERMAN, D. M.; BLOMBERG, S. P.; COLLINS, C. W.; WRIGHT, J. Population dynamics of feral horses (*Equus caballus*) in an exotic coniferous plantation in Australia **Wildlife Research** v. 43, p. 358–367, 2016

CAPÍTULO II

INFLUÊNCIA DO SOBREPESO EM DOIS TESTES DE SENSIBILIDADE À INSULINA, CONCENTRAÇÃO DE FATOR DE NECROSE TUMORAL- α E SUBPRODUTOS DA REAÇÃO DO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO EM ÉGUAS MANGALARGA MARCHADOR

RESUMO

O aprimoramento dos testes de sensibilidade à insulina para uso na prática clínica vem sendo um desafio. Os testes de campo disponíveis para o clínico ainda precisam de ajustes para se tornarem mais alinhados aos resultados dos “padrões ouro”. Os cálculos matemáticos dos *proxies* são mais fidedignos que a concentração de insulina de jejum e servem como valores preditivos de sensibilidade à insulina e secreção β -pancreática. O aumento da função insulínica leva ao aumento da ação de espécies reativas, que são segundo mensageiros em sua cascata. Para avaliar o impacto do escore corporal, foram testados dois grupos de animais, sendo o Grupo 1 (n=6) éguas com escore corporal (EC) considerado ideal (EC: 5,0 (0,0)) e o Grupo 2 (n=6) éguas com EC acima do ideal (EC: 6,25 (2,0)) para a espécie equina. Os animais foram submetidos ao teste glicose-insulina combinada (CGIT) e os valores preditivos (*proxies*) basais de sensibilidade à insulina (RISQI) e de secreção β -pancreática (MIRG) foram também calculados. Das amostras basais também foi determinada a concentração de fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico/malondialdeído (TBARS/MDA). Um animal de cada grupo obteve resultado positivo no CGIT (glicemia T45>T0). Houve diferença estatística entre a glicemia dos dois grupos durante o CGIT (p<0,01), não sendo significativas as diferenças entre momentos de coleta. Houve diferença estatística na concentração de insulina dos dois grupos (p<0,01), sendo que a concentração de insulina do Grupo 2 em T45 foi significativamente superior à do Grupo 1. Não foi observada diferença estatística na glicemia de jejum dos dois grupos (p=0,07) assim como na concentração de insulina plasmática de jejum (p=0,18). Quanto aos valores preditivos de sensibilidade à insulina, não houve diferença estatística entre os valores obtido pelo cálculo de RISQI (p=0,18), mas o Grupo 2 teve resultados de MIRG significativamente superiores ao Grupo 1 (p=0,02). Não houve diferença estatística nas concentrações de TNF- α plasmáticos (p=0,49). Os valores obtidos de TBARS/MDA não tiveram diferença estatística entre grupos (p=0,07), mas estiveram acima do descrito anteriormente para cavalos em repouso. Foi observado impacto do escore acima do ideal para a espécie na secreção β -pancreática mantendo níveis adequados de sensibilidade à insulina, indicando um processo de compensação do mecanismo insulino-dependente de captação de glicose.

Palavras chave: equino, sensibilidade à insulina, secreção β -pancreática, adipocina, estresse oxidativo

ABSTRACT

The improvement of insulin sensitivity tests for use in clinical practice has been a challenge. Field tests available for the practitioner still need to be more aligned to the results of the “gold standards”. Proxies are more reliable than the fasting concentration of insulin, and demonstrate good predictive value of insulin sensitivity and β -pancreatic secretion. Higher concentrations of Oxygen reactive species were found to be second messenger in the insulin pathways. Two groups of mares with different body condition status were tested. In Group 1 (n = 6), mares that were considered moderate (BCS: 5,0 (0,0)) and in Group 2 (n = 6), mares that were considered above the fit status (BCS: 6,25 (2,0)). Both groups were submitted to the combined glucose-insulin test (CGIT). Proxies for insulin sensitivity (RISQI) and β -pancreatic secretion (MIRG) were also calculated from basal blood samples, as well as the concentration tumor necrosis factor- α (TNF- α) and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS/MDA). One animal of each group got positive results in the CGIT trial to Equine Metabolic Syndrome (EMS) (glucose T45>T0). There was a difference between the two groups on blood glucose during CGIT ($p<0.01$) with no significant differences between moments. There was a difference in the concentration of insulin in both groups ($p<0.01$), whereas the concentration of Group 2 in T45 was significantly higher than Group 1. There was no difference in fasting glucose levels of two groups ($p=0.07$) and fasting plasma insulin ($p=0.18$) between the two groups. There was no significant difference between the values of insulin sensitivity (RISQI: $p=0.18$), but Group 2 had a significantly higher β -pancreatic response compared to Group 1 ($p=0.02$). No significant differences in plasma TNF- α concentrations ($p=0.49$) were observed. The values of TBARS/MDA also did not have significant differences between groups ($p=0.07$), but values were higher than previously described for resting horses. Horses with higher body condition score had higher β -pancreatic secretion indicating a compensation process in the insulin-dependent glucose uptake mechanism.

Keywords: horse, insulin sensitivity, β -pancreatic secretion, adipokine, oxidative stress

1. INTRODUÇÃO

As alterações metabólicas resultantes do status obeso em diversos animais são bastante conhecidas e estudadas. Essas alterações estão relacionadas ao mecanismo hormonal de captação da glicose como fonte energética, ao status inflamatório e ao estresse oxidativo. Estudos em diversas espécies vêm sendo desenvolvidos ao longo dos anos a fim de elucidar um potencial tóxico relacionado ao aumento dos níveis circulantes de insulina, assim como o aumento de tecido adiposo nos indivíduos e os efeitos deletérios sobre a saúde. Entre essas alterações estão o aumento de marcadores do *status* inflamatório e oxidativo.

À semelhança do que se encontra disponível para humanos (GELONEZE; TAMBASCIA, 2006), diversos testes de determinação da sensibilidade à insulina podem ser usados por veterinários de equinos. Os testes considerados “padrão ouro” para a espécie são o *clamp* euglicêmico-hipersulinêmico (HEC) e o teste intravenoso de glicose com coletas frequentes (FSIGT). Devido ao processo laborioso, seus usos se restringem a procedimentos laboratoriais e não utilização a campo (DUNBAR et al., 2016).

Duas formas de avaliação a campo são o teste de glicose-insulina combinada (CGIT) e *proxies* basais de sensibilidade à insulina e resposta β -pancreática (RISQI e MIRG). Sabe-se que o CGIT necessita de ajustes para melhor e mais fidedignos resultados (DUNBAR et al., 2016). O teste é tido como qualitativo, dando a predição de resistência à insulina quando a glicemia do momento T45 não retorna a valores abaixo ou iguais ao basal (FRANK et al., 2009). Por sua vez, os valores preditivos das *proxies* foram elaborados diretamente a partir de dados do modelo mínimo do “padrão ouro” FSIGT e têm valor preditivo semelhante às *proxies* utilizadas em medicina humana (TREIBER et al., 2005).

O estresse oxidativo é reflexo de um desequilíbrio bioquímico nos mecanismos de proteção celular durante o processo de obtenção de energia. O excesso de estímulo/substrato acaba levando a reação para a direita, esgotando fontes antioxidantes, levando a lesões de membrana fosfolipídica e lise celular subsequente. Esses mecanismos encontram-se elevados em casos de obesidade e disfunção insulínica (WANG et al., 2013).

Além disso, o aumento do estresse oxidativo está relacionado ao aumento da concentração circulante de TNF- α (WANG et al., 2013). Algumas citocinas inflamatórias estão diretamente ligadas a uma disparidade na sensibilidade a insulina (BRADLEY, 2008). Elas estão envolvidas no processo de modulação de energia disponível em situações de doenças infecciosas e/ou crônicas e são encontradas em maiores concentrações em casos de resistência à insulina (VICK et al., 2007).

O objetivo desse estudo foi comparar dois grupos de éguas Mangalarga Marchador não-gestantes/não-lactantes, sendo um grupo de animais considerado com escore ideal e outro, animais com escore acima do considerado ideal em um teste dinâmico de tolerância à glicose e avaliar as *proxies* basais de sensibilidade à insulina, um marcador inflamatório e um teste de avaliação de estresse oxidativo.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Avaliação do Metabolismo da Insulina

O bom funcionamento dos mecanismos relacionados à insulina são essenciais para a manutenção da homeostase. Em cavalos, o quadro de disfunção insulínica associado à obesidade e laminitite é a tríade para o diagnóstico de Síndrome Metabólica Equina. Animais que apresentam a síndrome têm diminuição da sensibilidade à insulina quando submetidos a teste oral ou intravenoso de sensibilidade à insulina como o Teste Intravenoso com Coletas Seriadas de Tolerância à Glicose (sigla em inglês – FSIGT) (HOFFMAN et al., 2003)

A disfunção insulínica caracterizada por resistência ao hormônio é quando há uma resposta biológica abaixo do normal dos tecidos a concentrações de insulina (KAHN, 1978), quando um nível normal ou elevado de insulina produz uma resposta biológica atenuada (WILCOX, 2005). Algumas metodologias podem ser utilizadas para predição da sensibilidade a insulina.

2.2. Testes da função insulínica

Alguns testes dinâmicos orais ou intravenosos tem processo menos elaborado e podem ser utilizados a campo, assim como *proxies* calculadas a partir de dados de glicemia e insulinemia de jejum. Entre os testes orais está o teste oral de açúcar (*oral sugar test* – OST), mas foi demonstrada baixa sensibilidade quando comparado ao “padrão ouro” FSIGT (DUNBAR et al., 2016).

2.2.1. Teste intravenoso de tolerância à glicose com coletas frequentes (FSIGT)

A sensibilidade à insulina pode ser avaliada por diversos testes, mas o modelo que mais se assemelha à homeostase é o teste intravenoso de tolerância à glicose com coletas frequentes (FSIGT) (HOFFMAN et al., 2003).

O teste para utilização em cavalos foi adaptado do modelo humano (PACINI et al., 1998) onde os dados obtidos durante o teste são utilizados para cálculos usando a análise de modelo mínimo (BOSTON et al., 2003). Das amostras coletadas durante o teste, são analisadas glicemia e insulinemia de todas as amostras.

Para a execução do teste, os animais devem se encontrar em jejum parcial, onde é suprimido o oferecimento de ração na noite anterior ao teste, sendo oferecido volumoso de baixo índice glicêmico e água *ad libitum* até o fim do ensaio.

Na noite anterior ou pela manhã, antes da realização do teste, a veia jugular deve ser cateterizada após devida antisepsia. O cateter deve ser fixado à pele do animal e acoplado a um extensor de cateter, também a ser fixado, para facilitar a manipulação da via. Após o acesso venoso, uma amostra basal deve ser colhida. Em seguida, administra-se um bólus de glicose de 200 mg/kg. A partir daí, são realizadas coletas de sangue subsequentes nos minutos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16 e 19 após a injeção de glicose. Aos vinte minutos uma dose de 20 mUI/kg de insulina deve ser administrada. Outras coletas sucessivas são efetuadas nos minutos 22, 23, 24, 25, 27, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 150, 180 após a injeção de glicose (TREIBER et al., 2007). Amostras de sangue para análise de glicose e insulina são coletados em todos os tempos através da via, após a remoção de pelo menos 5 mL de sangue dos resíduos represado entre coletas no extensor e cateter. Entre as coletas, é utilizada uma solução heparinizada para evitar a coagulação do acesso.

Dados de insulina e glicose obtidos durante o teste são analisados pelo modelo matemático denominado Modelo Mínimo, disponível no software (MinMod Millenium) (BOSTON et al., 2003). Os dados obtidos do modelo mínimo expressam a resposta das células β -pancreáticas secretoras de insulina em resposta a glicemia através da resposta aguda da insulina a glicose (AIRg), a capacidade da glicose promover sua auto captação (Sg), a capacidade da insulina promover a captação da glicose plasmática (SI), a eficiência da resposta das células β -pancreáticas relativa ao grau de sensibilidade à insulina do tecido dado pelo produto entre AIRg e SI (DI).

2.2.2. Teste combinado de glicose e insulina (CGIT)

Esse é um teste que pode ser realizado quando há suspeita de Síndrome Metabólica Equina. O oferecimento de ração dos animais deve ser suprimido na noite anterior ao teste, sendo oferecido volumoso de baixo índice glicêmico e água *ad libitum* até o fim do ensaio. Após antisepsia, canula-se a veia jugular com uso de cateter acoplado a um extensor fixado a pele para melhor manipulação da via venosa. É coletada uma amostra basal e logo em seguida, administrado um *bólus* de solução de glicose a 50% IV na dose de 150 mg/kg e 0,1 U/kg de insulina regular. São realizadas coletas em 1, 5, 15, 25, 35, 45, 60, 75, 90, 105, 120, 135, e 150 minutos após a administração de glicose e insulina, sendo avaliadas glicemia em todos os pontos e insulinemia da amostra basal e ao 45º minuto. Amostras de sangue para análise de glicose e/ou insulina são coletados em todos os pontos do tempo através da via, após a remoção de pelo menos 5 mL de resíduos estagnados no extensor entre os momentos de coleta. Entre as coletas, é utilizada uma solução heparinizada para evitar a coagulação do acesso. Animais com sensibilidade à insulina em níveis normais tem concentrações de glicose iguais ou menores que a basal ao 45º minuto de teste (FRANK, 2009).

2.2.3. Proxies basais de sensibilidade à insulina (RISQI e MIRG)

Outra maneira de prever a sensibilidade à insulina é através do cálculo de valores preditivos (*proxies*) basais de sensibilidade a insulina e responsividade β -pancreática (TREIBER et al., 2005; TURNER et al., 2011). Em humanos, a utilização de valores preditivos (*proxies*) basais de sensibilidade à insulina é feita em saúde pública para monitoração da Síndrome Metabólica. Da mesma forma, pode-se usar os valores preditivos (*proxies*) basais de sensibilidade à insulina e secreção β -pancreática específica para equinos como método de avaliação de rebanhos (TREIBER et al., 2005) já que a utilização de testes dinâmicos muitas vezes é inviável (PRATT-PHILLIPS et al., 2010). Através de cálculos de dados obtidos do modelo mínimo, chegou-se a cálculos semelhantes que possam ser utilizados em cavalos usando uma única coleta de sangue em jejum parcial dos animais. *Proxies* derivadas têm correlação com os dados obtidos através do FSIGT (TREIBER et al., 2005).

Para determinação da sensibilidade a insulina, os dados de insulina plasmática foram utilizados na equação que determina o recíproco quadrado inverso da insulina basal (do inglês: RISQI), onde:

$$RISQI = \frac{1}{\sqrt{\text{insulina basal}}} = \text{insulina basal}^{-0.5}$$

Para determinação da responsividade secretória de insulina das células β pancreáticas a glicose, os dados de glicemia e insulinemia foram utilizados na equação que determina a razão modificada insulina-glicose (do inglês: MIRG), onde:

$$MIRG = \frac{[800 - 0.30 \times (\text{insulina basal} - 50)^2]}{(\text{glicose basal} - 30)}$$

Os resultados obtidos são agrupados em quintis, mostrados no Quadro 3. RISQI tem comportamento crescente de sensibilidade à insulina, ou seja, animais resistentes a insulina se encontram nos primeiros quintis, enquanto animais sensíveis se encontram nos últimos. Por sua vez, MIRG tem comportamento decrescente, sendo que animais nos últimos quintis precisam de maior secreção de insulina para manter a homeostase da glicose enquanto animais nos primeiros quintis precisam secretar menos insulina para manter a resposta biológica (MELLO, 2012). Deve ser avaliada a possibilidade de falência pancreática em casos onde a secreção β -pancreática é muito baixa, associada a resistência à insulina.

Quadro 4 - Valores referenciais dos quintis de RISQI e MIRG (adaptado de Treiber et al., 2005)

	1	2	3	4	5
RISQI (mU/L) ^{-0,5}	0,152 a 0,295	0,296 a 0,335	0,336 a 0,393	0,394 a 0,470	0,471 a 0,953
MIRG U _{ins} ² /(10.L.mg _{glic})	1,20 a 2,12	2,13 a 3,48	3,49 a 4,54	4,55 a 5,27	5,27 a 10,67

2.3. Insulina e Óxido Nítrico (NO)

Um dos efeitos conhecidos da insulina é sua ação vasodilatadora (BARON, 1994). A administração de insulina em infusão local e sistêmica causa recrutamento capilar em humanos e ratos, que ocorre antes de uma alteração do fluxo sanguíneo sistêmico e antes da sinalização para captação de glicose pela musculatura esquelética. O mecanismo de recrutamento de vasos capilares relaciona-se às células endoteliais do leito vascular (RATTIGAN et al., 2007). O processo de vasodilatação insulino-mediado ocorre em concentrações mais baixas do hormônio do que as necessárias para promoção de captação de glicose pela musculatura (ZHANG et al., 2004).

Baixas concentrações de insulina têm ação vasodilatadora em leito vascular (BARON, 1994; ZHANG et al., 2004; RATTIGAN et al., 2007). Em cultivo celular, pode-se observar a presença de receptores de insulina nas células endoteliais que, através do mecanismo da inositol trifosfato-quinase (IP3-quinase) ativam a NO-S (RATTIGAN et al., 2007) aumentando a produção de NO na presença do hormônio (De LAAT et al., 2010a).

Sabe-se que a habilidade da insulina em promover vasodilatação se encontra deficitária em humanos em diversos estados de resistência à insulina (BARON, 1994). Pesquisas utilizando equinos demonstram que a laminite pode ser induzida por um período de hiperinsulinemia em animais com sensibilidade a insulina considerada normal (ASPLIN et al., 2007, De LAAT, 2010a, De LAAT et al., 2010b).

A ação da insulina como vasodilatadora está relacionada à enzima óxido nítrico sintase (NO-S). Além da NO-S originária do endotélio dos microvasos (eNO-S), há a classe das NO-S induzidas (iNO-S). Elas são produzidas em situações fisiológicas por diversos tecidos como músculo esquelético, fígado e tecido adiposo e no quadro de resistência à insulina e seu estado pró-inflamatório, por macrófagos ativados (KANEKI et al., 2007).

O óxido nítrico é sintetizado de forma endógena a partir do substrato L-arginina com a ação de diversas isoformas de oxido nítrico-sintase (CONNERS et al., 2006, BRUNINI et al., 2006). A reação dá origem a L-citrulina e óxido nítrico (NO) (BIANCHI, 2007).

Ele é um gás hidrofóbico que pode se difundir através das membranas das células endoteliais. É responsável pela regulação do tônus vascular, inibe a agregação plaquetária, a adesão de leucócitos, produção de endotelinas, age como neurotransmissor, em mecanismos de defesa, relaxamento do músculo liso e regulação da pressão arterial (BIANCHI, 2007).

O NO é considerado o principal fator de relaxamento endotélio-dependente, um vasodilatador e hormônio anti-inflamatório extremamente importante para a manutenção da homeostase vascular (SZABO, 2009) e esse mecanismo de vasodilatação se encontra diminuído em quadros de resistência à insulina (BARON, 1994).

2.4. Tecido Adiposo e Inflamação

O tecido adiposo é importante no estabelecimento de um ponto ideal do metabolismo energético do organismo. Ele desempenha esse papel a partir da secreção de diversas adipocinas que influenciam na saciedade e metabolismo bioquímico celular (RADIN; SHARKEY; HOLYCROSS, 2009). Um dos papéis importantes do tecido adiposo é no estabelecimento do *status* inflamatório crônico observado na obesidade.

A infiltração de macrófagos no tecido adiposo branco é importante para determinação condição inflamatória crônica observada na obesidade (CANCELLO; CLÉMENT, 2006). A pressão de oxigênio tecidual é um fator que determina a classe de macrófagos, sendo que o quadro de hipóxia, prevalente no tecido adiposo branco na obesidade, gera macrófagos da classe M1, que classicamente estão envolvidos na produção de citocinas como o fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e Interleucina-6 (IL-6) (FUJISAKA et al., 2013).

2.5. Espécies Reativas

Tanto as espécies reativas de oxigênio quanto as espécies reativas de nitrogênio são produzidos constantemente em sistemas biológicos, em condições de homeostase (BURNS et al., 2011). O equilíbrio é mantido através do contrabalanço dos processos oxidativos por agentes antioxidantes endógenos e exógenos (KIRSCHVINK; MOFFARTS; LEKEUX, 2008). Todos os sistemas biológicos que trabalham em condições aeróbicas estão expostos a oxidantes gerados intencionalmente ou como subprodutos. As espécies reativas de oxigênio e as espécies reativas de nitrogênio reagem indiscriminadamente com diversos tipos de substâncias (BASHAN et al., 2009).

Entre suas diversas funções dentro do sistema em homeostase estão a regulação do tônus vascular, regulação da adesão celular, amplificação do sistema imune, apoptose e como sinalização de mediadores em cascatas biológicas (BASHAN et al., 2009). Elas são importantes como segundo-mensageiro em cascatas como a da insulina (BURNS et al., 2011).

Elas são geradas de forma não controlada em processos inflamatórios ou por alguma disfunção biológica ou também ser provenientes dos alimentos (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006). Quando se perde o equilíbrio, ou seja, o organismo sai da homeostase, elas estão incriminadas na fisiopatologia de doenças ligadas ao envelhecimento, malignidade celular, aterosclerose, doenças neurodegenerativas, artrite reumatoide, injúria de isquemia-reperusão, apnéia do sono, obesidade e diabetes na medicina humana (BASHAN et al., 2009). O dano a proteínas pelas espécies reativas pode alterar o funcionamento de enzimas, receptores e mecanismos de transdução (CONNERS et al., 2006)

Dependendo das suas características químicas, algumas são altamente reativas com lipídios, proteínas e DNA, outros apenas com os lipídios. Há também a formação de espécies

danosas a partir de uma pouco reativa (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006, CONNERS et al, 2006).

2.5.1. Espécies reativas de Oxigênio (ERO)

Na mitocôndria, o poder redutor de substratos energéticos é convertido em adenosina trifosfato (ATP) através da cadeia respiratória e da enzima ATP-sintetase. A energia gerada pelo processo de oxirredução utiliza duas coenzimas (nicotinamida-adenina-dinucleotídeo – NADH – e flavina-adenina-dinucleotídeo – FADH₂), que transportam e doam seus elétrons para a cadeia transportadora de elétrons. Durante o transporte de elétrons das coenzimas para o oxigênio, gradiente eletroquímico é gerado pelas bombas de próton. A síntese de ATP se dá através do consumo desse gradiente de prótons. A cadeia respiratória é formada por quatro complexos: I – NADH ubiquinona-oxidoreductase; II – succinato biquinona-oxidoreductase; III – ubiquinol-citocromo-c oxidoreductase e IV – citocromo-c oxidase (VOTION et al., 2008).

O excesso de geração de oxidantes ou insuficiência de antioxidantes endógenos e/ou exógenos leva ao estresse oxidativo (KIRSCHVINK; MOFFARTS; LEKEUX, 2008). As espécies reativas de oxigênio têm a habilidade de oxidar e danificar diretamente DNA, proteínas e lipídeos. Além do dano direto a macromoléculas, elas funcionam como moléculas de sinalização, ativando diversos mecanismos celulares sensíveis ao estresse, que levam a danos celulares (EVANS et al., 2003). Essas espécies reativas de oxigênio são subdivididas em radiculares (hidroxila – HO[•], superóxido – O₂^{•-}, peroxila – ROO[•] – e alcoxila – RO[•]) e não-radicalares (oxigênio, peróxido de hidrogênio e ácido hipocloroso) (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

Por se tratarem de compostos extremamente instáveis, um método de mensuração é através do produto de peroxidação lipídica malondialdeído. Um dos métodos de mensuração do malondialdeído é através do ensaio de derivação com ácido tiobarbitúrico (TBARS). Apesar de criticado por baixa especificidade e formação de artefatos, o método continua sendo considerado um dos mais úteis e comumente utilizados por se tratar de um método simples (LYKKESFELD; SVENDSEN, 2007).

Em animais com Síndrome de Cushing, doença que cursa com hiperadrenocorticismos e resistência à insulina, foram encontrados dados de aumento do estresse oxidativo, que pode estar envolvido no quadro de laminite frequente nos casos da doença (KEEN et al., 2008). Em animais com histórico de SME, foi encontrado indícios de aumento do estresse oxidativo através da análise de subprodutos relacionados a glicose, semelhantes ao encontrado na Síndrome Metabólica humana e DM-II (VALLE et al, 2013). Em animais obesos, foi observado um aumento do mecanismo de proteção endógeno ao estresse oxidativo em nível muscular (BANSE et al., 2015).

2.5.2. Espécies reativas de Nitrogênio (ERN)

Durante os processos inflamatórios, células do sistema imune produzem NO e o ânion superóxido (BIANCHI, 2007). As espécies reativas de nitrogênio são por saber o peroxinitrito (OONO⁻), íon nitrosonium (NO⁺), anion nitroxil (NO⁻) e o dinitrogênio trióxido (N₂O₃) (KANEKI et al, 2007), o óxido nítrico (NO[•]), ácido nitroso (HNO₂), nitritos (NO₂⁻) e nitratos (NO₃⁻) (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

Dentre eles, o maior incriminado pelo dano nitrosativo é o peroxinitrito. O composto gera a lesão tecidual observada durante o estresse nitrosativo, que tem um potencial oxidante alto e longa meia-vida. Sua geração se dá a partir da reação da espécie reativa de oxigênio superóxido e NO, sintetizado a partir da arginina (CONNERS et al., 2006).

Alguns subprodutos de reação nitrosativa (NOx) podem ser utilizados como marcadores do processo, como a nitrotirosina (CONNERS et al., 2006) e nitritos (NO₂⁻) e nitratos (NO₃⁻) (BIANCHI, 2007).

Em pacientes humanos com Diabetes Mellitus tipos II e em obesos, observa-se o aumento de NOx na circulação quando comparados a indivíduos saudáveis. A diminuição do peso em pacientes humanos obesos, fator que sabidamente aumenta a sensibilidade a insulina nesses indivíduos, faz com que os níveis de NOx diminuam (KANEKI et al., 2007).

2.6. Disfunção Endotelial

A resistência à insulina é componente da Síndrome Metabólica humana, que está associada à hipertensão e risco de doenças cardiovasculares. Esse quadro também é uma alteração importante observada antes da Diabetes Mellitus tipo-II se tornar evidente (CERIELLO; MOTZ, 2004, KANEKI et al., 2007, ZENG; QUON, 1996). As principais alterações causadas pelo estresse oxidativo e/ou nitrosativo na rede vascular estão sumarizadas no Quadro 4.

De Laet et al. (2010a) considerou que a oscilação na taxa de glicemia dos animais que sofrem o processo de laminite deve ser um fator a ser considerado. Esse fator poderia induzir um processo de estresse oxidativo, semelhante ao observado em humanos com quadro de disfunção endotelial diabética.

2.7. Laminite

A laminite é uma doença dos animais ungulados que acomete principalmente equinos e bovinos. Ela se caracteriza por um processo inflamatório e degenerativo das lâminas dérmicas do casco (GONÇALVES, 2009). É um quadro debilitante que causa grandes perdas econômicas relacionadas.

Ela é definida como a falha da ligação entre estojo córneo e as estruturas da região da falange distal (POLLITT, 2007, De LAAT et al., 2010a). Com o desenvolvimento da laminite, o animal apresenta claudicação. A gravidade da claudicação foi graduada pela primeira vez por Obel, em 1948, de acordo com a claudicação associada. O grau 1 se caracteriza por mudança de peso de um pé para o outro, mas de forma relativamente livre. No grau 2, a claudicação é mais evidente, especialmente em curvas, e a marcha é de forma arqueada e descompassada. Um pé pode ser levantado sem causar desconforto extremo em seu contralateral. No grau 3, o cavalo está relutante em se mover e resiste a qualquer tentativa de levantar o pé, devido a dor causada em seu contralateral. O grau 4 é o mais severo, e o animal permanece imóvel ou em decúbito. Existe uma correlação entre os graus de Obel de claudicação e a severidade do acometimento do tecido lamelar na laminite (POLLITT, 2008).

A fisiopatologia do desencadeamento do processo continua obscura, mas há indícios que chegue ao local via circulação (POLLITT, 2007). No norte do continente americano, o quadro é comumente associado com ingestão de pastagens ricas em amido, frutanos e açúcar, (De LATT et al., 2010b). Esse tipo de alimentação, associado à obesidade é fator preponderante para o desenvolvimento da Síndrome Metabólica Equina. Além disso, a laminite pode ser induzida por um período de hiperinsulinemia em animais com sensibilidade a insulina considerada normal (ASPLIN et al., 2007; De LAAT, 2010a; De LAAT et al., 2010b). No Brasil, Paz et al. (2013) e Magalhães et al. (2014) apontam para uma correlação entre obesidade e alterações morfométricas entre o casco e a terceira falange, sugestivos de maior propensão à laminite. Nesse aspecto, o quadro se assemelha a disfunção endotelial observada em pacientes humanos que sofrem de Síndrome Metabólica ou Diabetes Mellitus tipo II.

Quadro 5: Alterações fisiopatológicas relacionadas com o peroxinitrito no distúrbio vascular (adaptado de Szabó, 2009)

Ação do peroxinitrito	Mecanismo envolvido
Inibição enzimática: morte celular ou disfunção endotelial	Oxidação, nitração
Inibição das bombas da membrana: morte celular	Oxidação, nitração
Inibição da NO-sintetase endotelial: perda do relaxamento endotélio-dependente	Oxidação, nitração
Inibição de enzimas antioxidantes: fragilização da célula ao dano oxidativo e morte celular	Oxidação, nitração
Distúrbios nos mecanismos de transdução de sinalização: desregulação de mecanismos celulares	Oxidação, nitração de receptores e mecanismos de transdução intracelulares
Lesão do DNA	Oxidação, nitração, desaminação,
Depleção das enzimas antioxidantes	Glutationa, oxidação da cisteína
Inibição de enzimas NAD ⁺ /NADH dependentes como a NO-sintetase endotelial	Oxidação de NAD ⁺ , depleção de NAD ⁺ e NADH
Peroxidação de lipídeos levando a dano celular	Peroxidação
Reações da cadeia oxidativa aumentando e levando a dano celular	Lipoperoxidação, α -oxoaldeídos reativos
Disfunção mitocondrial	Inibição de citocromos
<i>Up-regulation</i> de receptores de adesão levando a ativação de leucócitos	Ativação de NF-kB
Ativação da proteína C quinase levando a dano vascular entre outros	Múltiplo
Ativação de fragmentação do DNA	Ativação da caspase
Desregulação do cálcio levando a morte celular	Disfunção das bombas de Ca ⁺⁺ e metabolismo energético celular
Necrose celular	Lesão mitocondrial, colapso energético, oxidação, nitração, depleção de antioxidantes, desregulação do Ca ⁺⁺
Apoptose	Lesão mitocondrial, lesão do DNA, ativação da caspase, distúrbios da sinalização celular, desregulação do Ca ⁺⁺

Existem indícios do aumento do estresse oxidativo durante a laminite (JOHNSON; MESSER; GANJAM, 2004; MALLEM et al., 2010; BURNS et al., 2011), fato que é corroborado pelo aumento encontrado de produtos finais de glicação (De LATT et al., 2012). A exposição constante das células endoteliais a níveis relativamente altos de glicose, junto com a utilização de rações de alto índice glicêmico e depuração ineficaz da glicose pela insulina, leva a um aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (ERO). Essas ERO podem exceder a capacidade antioxidante celular, levando a um quadro de endoteliopatia (JOHNSON et al., 2004).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Animais e Critérios de Amostragem

O contato com os haras de criação da raça Mangalarga Marchador foi realizado através dos respectivos veterinários responsáveis. Durante a fase de triagem, os animais foram categorizados segundo escore corporal (HENNEKE et al., 1983) para montagem dos grupos testados. Desta forma, foram selecionadas 12 éguas não-gestantes/não-lactantes, com mediana de idade de 11 (21) anos, usadas para fim de reprodução (matrizes ou doadoras). Os animais foram distribuídos em grupos de acordo com seu escore corporal (HENNEKE et al., 1983), sendo o Grupo 1 composto por 6 éguas com escore corporal igual a 5 e o Grupo 2 por 6 éguas com escore corporal acima de 6.

Os animais no estudo encontravam-se clinicamente sadios. O exame clínico constituiu-se de resenha, onde os animais foram identificados por nome e em seguida numerados. Os animais, em sua totalidade, eram fêmeas vazias. Foi feita breve anamnese, onde a pessoa mais próxima à rotina do cavalo respondeu questões sobre história médica recente e pregressa e fatores sobre o ambiente e manejo do animal avaliado e da propriedade. Foi realizado exame físico levando em conta estado geral do animal e parâmetros vitais. Foi realizado exame de inspeção e palpação para detecção de claudicação (FEITOSA, 2008). Animais que apresentassem febre, feridas abertas, dificuldade respiratória, claudicação ou lesão aparente de qualquer origem ao exame físico ou prenhes foram excluídos da seleção.

Foi realizado hemograma completo em contador automático de células⁵ e determinação de fibrinogenemia pela diferença dos valores obtidos por refratometria da proteína total em soro fluoretado e após processo de desnaturação a 56°C por 3 minutos (ECKERSALL, 2008) na triagem, para excluir animais que apresentassem alterações hematológicas.

3.2. Amostras

Amostras de sangue foram obtidas através da punção da veia jugular com cateter 14G e extensor para melhor manipulação da via. As amostras de sangue basal (T0) foram obtidas para determinação de proxies basais de sensibilidade a insulina, para utilização no ensaio de TBARS e mensuração de TNF- α , assim como para a execução do teste glicose-insulina combinado (CGIT). Outras amostras foram coletadas no decorrer do teste de acordo com minutos pós infusão (a saber: T1, T5, T15, T25, T35, T45, T60, T75, T90, T105, T120, T135 e T150, onde cada número equivale ao tempo, em minutos, decorrido do teste).

As amostras de sangue foram prontamente acondicionadas em tubos contendo heparina sódica para avaliação da insulinemia, TNF α e ensaio de TBARS, e em tubos contendo EDTA fluoretado para posterior análise de glicemia. As amostras foram imediatamente acondicionadas em recipiente tipo *cooler* contendo água com gelo e prontamente centrifugadas a 2000g. Aliquotas do plasma foram acondicionadas em microtubos de 1,5ml e armazenadas em *freezer* -20° C para posterior determinação de glicemia, insulinemia e TNF- α . As amostras destinadas ao ensaio de TBARS foram acondicionadas em frascos do tipo criotubo e mantidas em gelo seco até o armazenamento em *freezer* -80°C.

3.3. Teste Combinado de Glicose e Insulina (CGIT)

⁵pocH-100iV Diff® (Sysmex Brasil Indústria e Comércio LTDA®)

O oferecimento de ração dos animais foi suprimido na noite anterior ao teste, sendo oferecido feno de capim *Coast Cross* e água *ad libitum* até o fim do ensaio. Após antisepsia, a veia jugular foi canulada usando cateter 14G no qual foi acoplado um extensor para melhor manipulação da via. Tanto o cateter quanto o extensor foram suturados com pontos simples, usando-se fio de *nylon 0* junto à pele do animal para sua fixação.

Foi coletada uma amostra basal (T0) e logo em seguida, administrado um *bólus* de solução de glicose a 50% IV na dose de 150 mg/kg e 0,1 U/kg de insulina regular. As coletas foram realizadas em T1, T5, T15, T25, T35, T45, T60, T75, T90, T105, T120, T135, e T150, equivalente aos minutos decorridos após a administração do *bólus* de glicose e insulina. Foi avaliada glicemia em todos os pontos, usando-se glicosímetro portátil, e insulinemia da amostra basal, ao 45° minuto e 75° minuto. Foram coletadas amostras de sangue para análise de glicose e/ou insulina em todos os pontos do tempo através da via, após a remoção de pelo menos 5 mL de resíduos de sangue existente no extensor. Entre as coletas, foi utilizada uma solução heparinizada para evitar a obliteração do acesso devido à coagulação (FRANK, 2009).

As concentrações de glicose foram determinadas usando glicosímetro manual⁶ e fitas reagentes, de acordo com as recomendações do fabricante.

As concentrações de insulina foram determinadas em duplicata por meio de radioimunoensaio sanduíche de fase sólida⁷ (OBA, 2014 – comunicação pessoal, dados não publicados). As análises foram realizadas no laboratório de Biofísica do Departamento de Ciências Fisiológicas da UFRRJ. Foi medida a insulina *in natura* das amostras. Para a execução do teste, os padrões, controles e amostras foram incubados em tubos revestidos com um primeiro anticorpo monoclonal na presença de um reagente contendo o segundo anticorpo monoclonal radio marcado com I¹²⁵. Depois de incubado, os tubos foram lavados com a solução de enxágue para retirar anticorpos radio marcados que não se ligaram à insulina. A determinação da radioatividade da ligação foi feita em aparelho gammacounter. As concentrações das amostras foram obtidas através de interpolação com a curva padrão usando programa de dados Graphpad Prism 5.0, sendo os dados obtidos diretamente proporcionais a radioatividade medida.

3.4. *Proxies* Basais de Sensibilidade à Insulina

Os resultados de glicemia e insulinemia das amostras basais foram utilizados para o cálculo das *proxies* (TREIBER et al., 2005).

Os dados de insulina plasmática foram utilizados na equação que determina o recíproco quadrado inverso da insulina basal (sigla em inglês: RISQI), onde:

$$RISQI = \text{insulina basal}^{-0.5}$$

Para determinação das *proxies* basais de responsividade secretória de insulina das células β -pancreáticas à glicose, os dados de glicemia e insulinemia foram utilizados na equação que determina a razão modificada insulina-glicose (sigla em inglês: MIRG), onde:

$$MIRG = \frac{[800 - 0.30 \times (\text{insulina basal} - 50)^2]}{(\text{glicose basal} - 30)}$$

⁶ Accucheck®, ROCHE®

⁷ Insulin(e) IRMA Kit® (Beckman Coulter®)

3.5. Subprodutos de Reação ao Ácido Tiobarbitúrico/Malondialdeído (TBARS/MDA)

Alíquotas de plasma heparinizado da amostra basal foram utilizadas para elaboração do ensaio de TBARS/MDA. Foram medidos os produtos resultantes da reação com o ácido tiobarbitúrico (TBARS) conforme descrito por Wills (1966). Amostras de 250µL soro foram tratadas com ácido tricloroacético 5%, ácido tiobarbitúrico 0,37% e ácido clorídrico 0,25 N por 30 minutos a 90°C. Após a centrifugação, a absorbância do sobrenadante foi determinada em 530nm. Como padrão, foi empregada a solução de malondialdeído - MDA⁸.

3.6. Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- α)

A concentração sérica de TNF- α foi determinada utilizando ensaio imunoenzimático (ELISA) sanduíche⁹ (VICK et al., 2007). A placa de microtitulação fornecida pelo kit comercial é revestida por anticorpos específicos para TNF- α . Nela foram adicionados padrões e amostras em seus poços. Junto com anticorpo conjugado com biotina específico para TNF- α . Avidina conjugada com peroxidase de rábano (HRP) foi adicionada a cada poço e a reação foi incubada. Em seguida, a solução de TMB foi adicionada aos poços contendo TNF- α para que ocorresse a revelação. A solução de ácido sulfúrico foi adicionada para parar a reação. A alteração de cor foi medida espectrofotometricamente a um comprimento de onda de 450 nm \pm 10 nm. As concentrações de TNF- α foram determinadas por comparação da absorvância das amostras com a da curva padrão.

3.7. Análise Estatística

A normalidade dos dados foi testada utilizando-se o teste de Shapiro Wilk. Dados com distribuição gaussiana foram testados por testes paramétricos. Dados com distribuição não-normal foram submetidos a transformação através da função $y = \log(y)$. Se após o processo, assumiram distribuição normal, foram testados com estatística paramétrica. Se a condição de normalidade não foi aceita, testes não-paramétricos foram executados.

Os dados obtidos do teste de tolerância a glicose CGIT foram descritos de forma qualitativa. A glicemia e concentração de insulina de cada grupo foram comparadas usando ANOVA 2-way e pós-teste de Bonferroni.

Foi utilizado o teste t como teste paramétricos e o teste de Mann Whitney como teste não-paramétrico. Todos os testes utilizados levavam em conta variáveis independentes. Os dados ordinais foram expressos em média e desvio padrão. Foi respeitado o nível de significância a 5% em todos os testes utilizados.

Para a execução dos procedimentos estatísticos, foram utilizados os programas de dados Action Stat v. 3.1.43.702.667 e GrafPad Prism 5.0

⁸ E-Merck®

⁹ SEA133Eq®, Cloud-Clone Corp®

4. RESULTADOS

Os grupos de animais com escore ideal (Grupo 1) foi comparado com o grupo de animais que apresentavam escore acima do ideal (Grupo 2). A mediana e amplitude de escore corporal (EC) do Grupo 1 foi 5,0 (0,0) e do Grupo 2 foi 6,25 (2,0) (Figura 5).

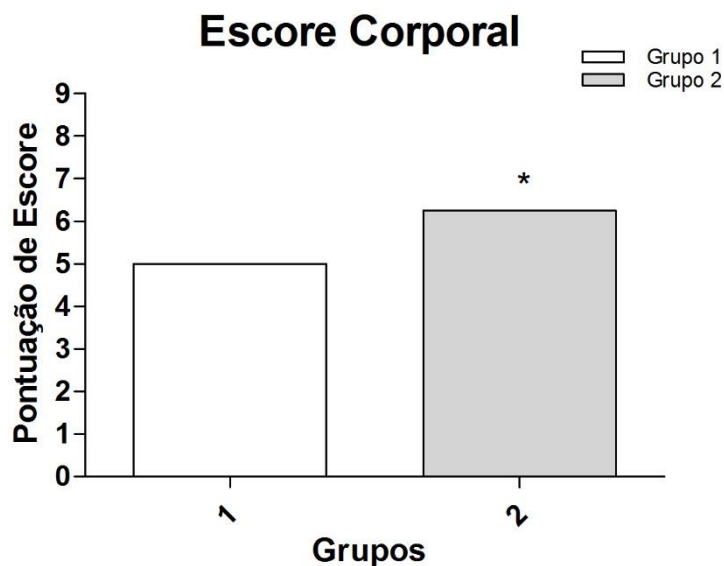


Figura 5: Medianas do escore corporal dos grupos avaliados no estudo. Coluna assinalada com (*) foi significativamente superior

Analisando os resultados imediatos do teste CGIT, um dos seis animais do Grupo 1 e um do Grupo 2 tiveram resultados positivos (glicemia aos 45 minutos – T45 – maior que a glicemia basal – T0). A dinâmica do teste é apresentada na Figura 7. Houve diferença estatística na dinâmica da glicemia dos dois grupos ($p < 0,01$), não sendo observada diferenças quando comparadas as concentrações a cada momento. A diferença entre os grupos também foi observada na concentração de insulina plasmática ($p < 0,01$), sendo estatisticamente superior ao resultado do Grupo 2 dois comparado ao Grupo 1 no momento T45 (Tabela 5).

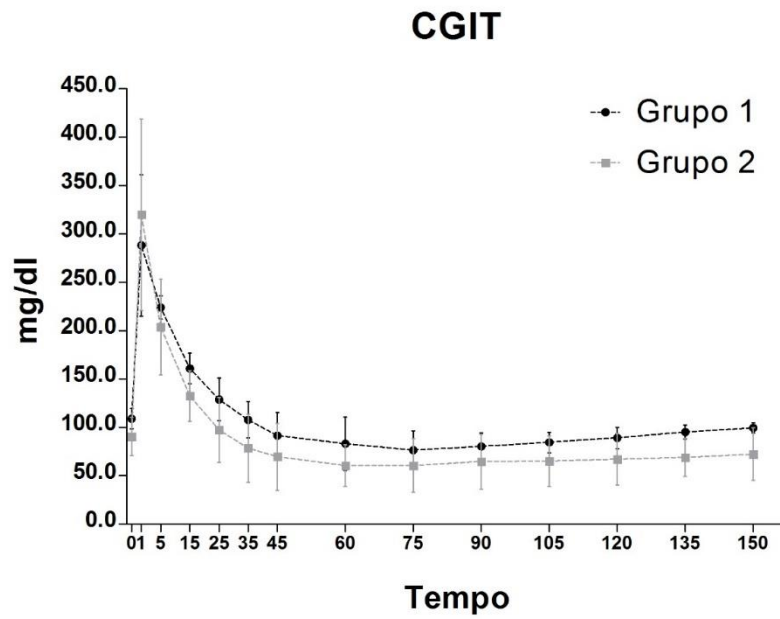


Figura 6: Médias e desvio padrão dos valores de glicemia obtidos das dinâmicas dos dois grupos durante o teste de glicose-insulina combinada (CGIT). Não houve diferença entre grupos.

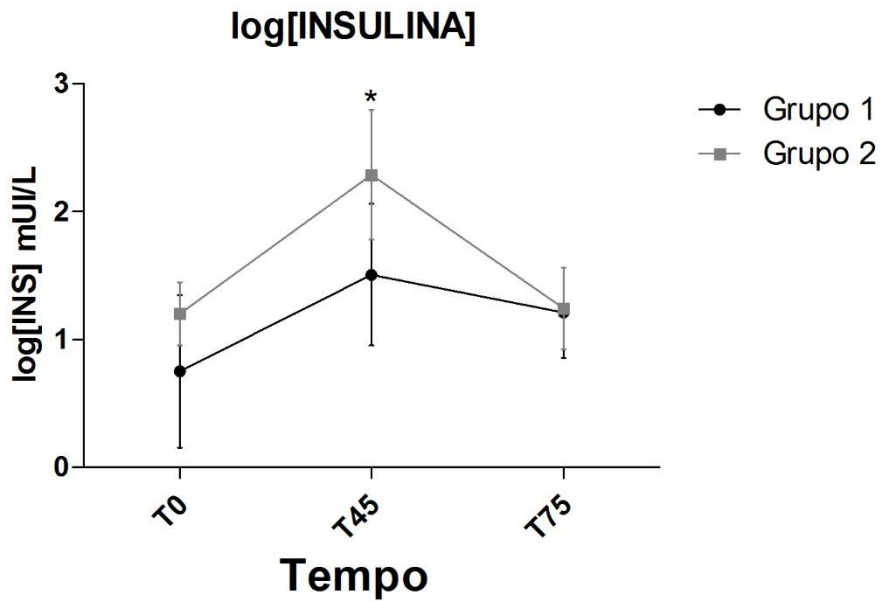


Figura 7: Função logarítmica das médias e desvio padrão dos valores de concentração de insulina plasmática obtidos das dinâmicas dos dois grupos durante o teste de glicose-insulina combinada (CGIT). A concentração de insulina do Grupo 2 no momento T45 foi superior à observada no Grupos 1.

Tabela 5: Médias e desvio padrão dos valores de glicemia e da insulinemia obtidos durante o teste de glicose-insulina combinada. Não houve diferença entre a média das glicemias entre os grupos. A concentração de insulina do Grupo 2 no momento T45 foi superior à observada no Grupo 1.

	Grupo 1 (Ideal)		Grupo 2 (Acima do Ideal)	
	Glicemia (mg/dl)	Insulinemia (mUI/L)	Glicemia (mg/dl)	Insulinemia (mUI/L)
T0	108,83 ± 10,496	8,82 ± 5,99	90,50 ± 19,705	18,48 ± 10,82
T1	288,17 ± 73,200	--	319,83 ± 98,889	--
T5	224,00 ± 12,116	--	203,83 ± 49,507	--
T15	160,83 ± 15,753	--	132,50 ± 26,327	--
T25	128,80 ± 22,084	--	97,33 ± 33,625	--
T35	107,83 ± 18,851	--	78,33 ± 35,217	--
T45	91,50 ± 23,839	22,84 ± 151,18	69,50 ± 34,593	377,3 ± 365,93*
T60	83,00 ± 27,488	--	60,33 ± 21,520	--
T75	76,33 ± 19,896	21,59 ± 27,74	60,50 ± 27,624	24,30 ± 11,76
T90	80,33 ± 13,808	--	64,60 ± 28,395	--
T105	84,33 ± 10,558	--	65,00 ± 26,253	--
T120	89,00 ± 11,063	--	67,00 ± 26,503	--
T135	95,17 ± 7,223	--	68,83 ± 19,894	--
T150	99,33 ± 5,203	--	72,17 ± 27,140	--

Dados assinalados com (*) são significativamente superiores no teste de Bonferroni no nível de 5% de significância.

Não houve diferença estatística entre os valores de glicemia de jejum ($p=0,07$), na concentração de insulina plasmática de jejum ($p=0,18$) dos dois grupos em T0, assim como nos valores calculados de sensibilidade à insulina através de *proxy* (RISQI: $p=0,18$). A secreção β -pancreática do Grupo 2 foi superior à do Grupo 1 (MIRG: $p=0,02$). Não houve diferença nas concentrações de TNF- α ($p=0,49$) e nos resultados de estresse oxidativo (TBARS/MDA: $p=0,07$). Não houve diferença quando observada a glicemia do momento T45 entre os grupos ($p=0,23$), mas a concentração plasmática de insulina em T45 do Grupo 2 foi superior ao encontrado no Grupo 1 ($p=0,03$). Não houve diferença entre a glicemia ($p=0,28$) e concentração de insulina plasmática ($p=0,43$) dos dois grupos no momento T75. Os valores se encontram descritos na Tabela 6.

Tabela 6: Médias e desvios padrão dos dados normais, medianas e amplitudes de dados não-normais observadas no estudo. Houve influência do escore corporal (EC) na secreção β -pancreática.

	Grupo 1	Grupo 2	Valor de p
CGIT (+)	1/6	1/6	
GLC (mg/dl)	108,8 \pm 10,50	90,5 \pm 19,71	0,28
INS (mUI/L)	8,82 \pm 5,99	18,48 \pm 10,82	0,43
RISQI (mUI/L _{ins}) ^{-0,5}	0,338 (1,363)	0,238 (0,176)	0,18
MIRG U _{ins} ² /(10.L.mg _{glic})	3,68 \pm 2,07	8,37 \pm 4,25*	0,02
log [TNF-α] (pg/ml)	2,162 \pm 0,2928	2,051 \pm 0,1942	0,49
TBARS/MDA (nmol/g Hb)	1,32 \pm 0,02	1,37 \pm 0,01	0,07

Médias de desvio padrão assinalados com () na coluna foram significativamente superiores no nível de 5% de significância.

**CGIT: teste de glicose-insulina combinada (*combined glucose-insulin test*); RISQI: valor preditivo (*proxy*) de sensibilidade à insulina (*reciprocal of the square root of insulin*); MIRG: valore preditivo (*proxy*) de secreção β -pancreática (*modified insulin-to-glucose ratio*); log[TNF- α]: função logarítmica da concentração do fator de necrose tumoral α ; TBARS/MDA: subprodutos de reação ao ácido tiobarbitúrico/malondialdeído (*thiobarbituric acid reactive substances*)

5. DISCUSSÃO

Casos de Diabetes Mellitus do tipo II (DMII) em cavalos são bastante raros (MUYLLE et al., 1986). Nos últimos 25 anos, um número muito restrito de trabalhos descreve o quadro em cavalos, como a publicação de Durham et al., 2009 e de Johnson et al., 2005. No presente estudo, não foi observada hiperglicemia em nenhum dos grupos quando avaliada a glicemia de jejum (KANEKO; HARVEY; BRUSS, 2008).

Um método que é utilizado para predição de estado insulirresistente é tomar a concentração de 20 μ UI/ml como concentração limite de normalidade (DUNBAR et al., 2016). Esse método é controverso como forma real de se avaliar resistência à insulina (McCUE; GEOR; SCHULTZ, 2015), mas é usado como valor de “corte”, já que esses níveis de concentração são encontrados em animais resistentes, mas não exclui que animais com valores abaixo desse não o sejam. Os animais do estudo, em ambos os grupos, tiveram resultados de insulinemia compatíveis com valor referencial de concentrações menores a 20 μ UI/ml.

Observando o traçado da dinâmica referentes à insulina, fica claro que animais do Grupo 2 apresentam um processo de depuração deficitário quando comparado com o Grupo 1, mesmo que isso não seja expresso nos valores de glicemia. Taxas lentas de depuração da insulina são frequentemente associadas a quadro de obesidade. No teste utilizado, as concentrações de insulina em T45 e T75 são utilizados no acompanhamento do paciente durante o manejo e tratamento da Síndrome Metabólica (FRANK, 2009). Não há descrita uma referência acerca de um limite de normalidade ou comportamento esperado das concentrações de insulina nos momentos, já que o teste não prevê um acompanhamento da secreção β -pancreática.

Níveis circulantes aumentados e menor receptação de insulina com sensibilidade à insulina compensada e níveis glicêmicos normais podem ser interpretados como o início do quadro de disfunção insulínica (MELLO, 2012). Os resultados obtidos quando calculados os valores preditivos de sensibilidade à insulina (RISQI) e secreção β -pancreática (MIRG) demonstram exatamente esse quadro nos animais participantes do teste, sendo RISQI semelhantes estatisticamente, porém maiores numericamente no Grupo 1 quando comparado com o Grupo 2, enquanto os valores de MIRG no Grupo 2 são estatisticamente superiores quando comparados com o Grupo 1.

O estado pró-inflamatório encontrado na obesidade se dá pela síntese pelos adipócitos de diversos de diversas citocinas (adipocinas) que servirão de mediadores para células inflamatórias. Entre as adipocinas geradas no quadro de obesidade está o fator de necrose tumoral- α (TNF- α) (FANTUZZI, 2005, TILG; MOSCHEN, 2008). Outros processos relacionados ao quadro pró-inflamatório observado na obesidade são a inibição da síntese de adiponectina, estresse em nível do retículo endoplasmático e estresse oxidativo, pela síntese de espécies reativas ao oxigênio e/ou diminuição das defesas antioxidantes (TILG; MOSCHEN, 2008). Não foi encontrada diferença significativa entre os grupos avaliados no presente estudo. Vick et al. (2007) encontraram correlação incipiente, porém significativa de acordo com escore corporal dos animais, mas correlação baixa e significativa entre a concentração de insulina e sensibilidade à insulina dos animais em seu estudo, sem notas sobre manifestação clínica de laminite. Vale ressaltar que os animais do estudo aqui apresentado não manifestavam sinais clínicos de laminite. O processo inflamatório é um retroalimentador da concentração de TNF- α , já que a citocina é encontrada na membrana celular de macrófagos ativados e linfócitos, sendo liberada na corrente sanguínea a partir da ação de metaloproteinases, que por sua vez sofrem influência do balanço oxidativo para ativação (BRADLEY, 2008). A concentração de metaloproteinases encontram-se aumentadas

em quadros de laminite aguda e crônica (POLLITT, 2004), mas não está aumentada durante a fase prodrômica da laminite induzida por hiperinsulinemia (De LAAT et al., 2012). Outro fator que pode ter influenciado é que os animais do grupo 2 se apresentavam com sobrepeso (mediana: 6,25 (2,0)) e não obesos. A menor quantidade de gordura corporal esperada para a condição corporal dos animais pode ter influenciado o resultado obtido, já que o tecido adiposo tem função na regulação do mecanismo insulínico dependente de regulação da homeostase da glicose (WANG et al., 2013).

Em situações fisiológicas, as espécies reativas de oxigênio (ERO's) não afetam o funcionamento do organismo (KIRSCHVINK; MOFFARTS; LEKEUX, 2008) tendo importante papel como segundo-mensageiros na cascata de insulina (BURNS et al, 2011). Se encontra aumento das concentrações em casos de quadros inflamatórios (JOHNSON; MESSER; GANJAM, 2004; KEEN et al., 2008; MALLEM et al., 2010; BURNS et al., 2011; De LAAT et al., 2012; VALLE et al., 2013) e os mecanismos endógenos de proteção ao processo oxidativo se encontram aumentados em animais obesos (BANSE et al., 2015). O teste de TBARS não mensura a quantidade de enzimas relacionadas ao processo oxidativo ou os mecanismos de depuração das ERO's, mas dá o resultado relativo à produção do subproduto de reação oxidativa malondialdeído (MDA). Da mesma forma que os animais do presente estudo não apresentaram diferença estatística nas concentrações de TNF- α , não foi observada diferença estatística nos resultados de TBARS/MDA. No entanto, os valores encontrados no presente estudo em ambos os grupos são maiores que os obtidos em animais em repouso no estudo publicado por Lindner, 2000.

6. CONCLUSÃO

O escore corporal acima do ideal está associado a diminuição da taxa de depuração da insulina durante o teste de glicose-insulina combinada (CGIT) e a maiores valores preditivos de secreção β -pancreáticos (MIRG) quando comparados com os animais de escore ideal em éguas da raça MM.

Não foram encontradas evidências da participação de inflamação ou estresse oxidativo sistêmicos no processo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASPLIN, K. E.; SILLENCE, M. N.; POLLITT, C. C.; MCGOWAN, C. M. Induction of laminitis by prolonged hyperinsulinaemia in clinically normal ponies **The Veterinary Journal** v. 174, p. 530–535, 2007
- BANSE, H. E.; FRANK, N.; KWONG, G. P. S.; MCFARLANE, D. Relationship of oxidative stress in skeletal muscle with obesity and obesity-associated hyperinsulinemia in horses **The Canadian Journal of Veterinary Research** v. 79, p. 329–338, 2015
- BARON, A. D. Hemodynamics actions of insulin **American Journal of Physiology** v. 267, n.1, p. E187-E202, 1994
- BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo **Quimica Nova** v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006
- BASHAN, N.; KOVSAN, J.; KACHKO, I.; OVADIA, H.; RUDICH, A. positive and negative regulation of insulin signaling by reactive oxygen and nitrogen species **Physiology Review** v. 89, p. 27–71, 2009
- BIANCHI, P. D. **Efeito da vitamina E sobre marcadores periféricos de estresse oxidativo em pacientes renais crônicos em hemodiálise** 2007, 179f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas), Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas – UFRGS, Porto Alegre, 2007
- BOSTON, R. C.; STEFANOVSKI, D.; MOATE, P. J.; SUMNER, A.E.; WATANABE, R. M.; BERGMAN, R. N. MinMod Millennium: A computer program to calculate glucose effectiveness and insulin sensitivity from the frequently sampled intravenous glucose tolerance test **Diabetes Technology & Therapeutics** v. 5, n. 6, 2003
- BRADLEY, J. R. TNF-mediated inflammatory disease **Journal of Pathology** v. 214, p. 149-160, 2008
- BRUNINI, T. M. C.; PERIM, N.; COSTA, E.; MENDES-RIBEIRO, A. C. O papel da via L-arginina-óxido nítrico em doenças pulmonares **Pulmão RJ** v. 15, n. 3, p. 184-190, 2006
- BURNS, T.A.; WESTERMAN, T.; NUOVO, G.J.; WATTS, M. R.; PETTIGREW, A. YIN, C.; BELKNAP, J. K. Role of Oxidative tissue injury in the pathophysiology of experimentally induced equine laminitis: a comparison of 2 models **Journal of Veterinary Internal Medicine** v. 25, p.540–548, 2011
- CANCELLO, R; CLÉMENT, K Is obesity an inflammatory illness? Role of low-grade inflammation and macrophage infiltration in human white adipose tissue **British Journal of Obstetrics and Gynaecology** v. 113, n. 10, p. 1141–1147, 2006
- CERIELLO, A.; MOTZ, E. Is oxidative stress the pathogenic mechanism underlying insulin resistance, diabetes, and cardiovascular disease? The common soil hypothesis revisited. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology** v. 24, n. 5, p. 816-823. 2004

CONNERS, W.; WHITEBECK, C.; CHICESTER, P.; LEGGET, R.; YU LIN, A. D.; JOHNSON, A.; KOGAN, B.; LEVIN, R.; MANNIKAROTTU, A. L-NAME, a nitric oxide synthase inhibitor, diminishes oxidative damage in urinary bladder partial outlet obstruction **American Journal of Physiology – Renal Physiology** v. 290, p. F357–F363, 2006.

De LAAT, M. A.; MCGOWAN, C. M.; SILLENCE, M. N.; POLLITT, C. C. Hyperinsulinemic Laminitis **Veterinary Clinic Equine** v.26, p. 257–264, 2010b

De LAAT, M. A.; MCGOWAN, C. M.; SILLENCE, M. N.; POLLITT, C. C. Equine laminitis: Induced by 48 h hyperinsulinaemia in Standardbred horses **Equine Veterinary Journal** v. 42, n. 2, p. 129-135 2010a

De LAAT, M.A.; KYAW-TANNER, M.T.; SILLENCE, M.N.; MCGOWAN, C.M.; POLLITT, C.C. Advanced glycation endproducts in horses with insulin-induced laminitis **Veterinary Immunology and Immunopathology** v. 145, p. 395– 401, 2012

DUNBAR, L. K.; MIELNICKI, K. A.; DEMBEK, K. A.; TORIBIO, R. E.; BURNS, T. A. Evaluation of four diagnostic tests for insulin dysregulation in adult light-breed horses **Journal of Veterinary Internal Medicine** v. 30, n. 3, p. 885-892, 2016

DURHAM, A. E.; HUGHES, K. J.; COTTLE, H. J.; RENDLE, D. I.; BOSTON, R. C. Type 2 Diabetes Mellitus with pancreatic cell dysfunction in 3 horses confirmed with minimal model analysis **Equine Veterinary Journal** v. 41, n. 9, p. 924-929, 2009

ECKERSALL, P. D. Proteins, proteomics, and the dysproteinemias in clinical biochemistry of domestic animals In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. (6ª edição) **Clinical Biochemistry of Domestic Animals** San. Diego: Academic Press, 2008, p. 117-151

EVANS, J. L.; GOLDFINE, I. D.; MADDUX, B. A.; GRODSKY, G. M. Are oxidative stress-activated signaling pathways mediators of insulin resistance and β -cell dysfunction **Diabetes** v. 52, n. 1, p1-8, 2003

FANTUZZI, G Adipose tissue, adipokines, and inflammation **Journal of Allergy and Clinical Immunology** v. 115, n. 5, 2005

FEITOSA, F. L. F. Introdução à semiologia In: FEITOSA, F. L. F. (2ª edição) **Semiologia Veterinária – a arte do diagnóstico** São Paulo: Editora ROCA 2008, p. 1-27

FRANK, N. Equine Metabolic Syndrome **Journal of Equine Veterinary Science** v. 29, n. 5, p. 259-267, 2009

FUJISAKA, S.; USUI, I.; IKUTANI, M.; AMINUDDIN, A.; TAKIKAWA, A.; TSUNEYAMA, K.; MAHMOOD, A.; GODA, N.; NAGAI, Y.; TAKATSU, K.; TOBE, K. Adipose tissue hypoxia induces inflammatory M1 polarity of macrophages in an HIF-1 α -dependent and HIF-1 α -independent manner in obese mice **Diabetologia** v. 56, n. 6, p. 1403–1412, 2013

GELONEZE, B.; TAMBASCIA, M. A. Avaliação laboratorial e diagnóstico de resistência insulínica **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia** v. 50, n. 2, p. 208-215, 2006

GONÇALVES, C. A. P. **Apoptose de células epidermais lamelares em eqüinos com laminite induzida e tratados com anti-inflamatórios não esteroidais** 2009. 55f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária, UFRRJ, Seropédica, 2009

HENNEKE, D. R POTTER, G. D.; KREIDER, J. L.; YEATES, B. F. Relation between condition score, physical measurements and body fat percentage in mares. **Equine Veterinary Journal**, v. 15, p. 371-372, 1983.

HOFFMAN, R. M.; BOSTON, R. C., STEFANOVSKI; KRONFELD, D. S.; HARRIS, Obesity and diet affect glucose dynamics and insulin sensitivity in Thoroughbred geldings. **Journal of Animal Sciences** v.81, p.2333-2342, 2003.

JOHNSON, P. J.; MESSER, N. T.; GANJAM, V. K. Cushing's syndromes, insulin resistance and endocrinopathic laminitis **Equine Veterinary Journal** v. 36, n. 3, p. 194-198, 2004

JOHNSON, P. J.; MESSER, N. T.; SLIGHT, S. H.; WIEDMEYER, C.; BUFF, P.; GANJAM, V. K. Endocrinopathic laminitis in the horse **Clinical Techniques in Equine Practice** v. 3, n. 1, p. 45-56 2004

JOHNSON, P. J.; SCOTTY, N. C.; WIEDMEYER, C.; MESSER, N. T.; KREEGER, J. M. Diabetes Mellitus in a domesticated Spanish Mustang **Journal of the American Veterinary Medical Association** v. 226, n. 4, p. 584-588, 2005

KAHN, C. R. Insulin resistance, insulin insensitivity, and insulin unresponsiveness: a necessary distinction. **Metabolism** v. 27, p.1893–1902, 1978

KANEKI, M.; SHIMIZU, N.; YAMADA, D.; CHANG, K. Nitrosative stress and pathogenesis of insulin resistance **Antioxidants and Redox Signaling** v.9, n. 3, p. 319-329, 2007

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. Appendix VIII – Blood analyte reference values in large animals In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. (6ª edição) **Clinical Biochemistry of Domestic Animals** San. Diego: Academic Press, 2008, 882-888

KEEN, J. A.; HILLIER, C.; MCGORUM, B. C.; NALLY, J. E. Endothelin mediated contraction of equine laminar veins **Equine Veterinary Journal** v.40, n. 5, p. 488-492, 2008

KIRSCHVINK, N.; MOFFARTS, B.; LEKEUX, P. The oxidant/antioxidant equilibrium in horses **The Veterinary Journal** v.177, p. 178–191, 2008

LINDNER, A. Use of blood biochemistry for positive performance diagnosis of sports horses practice **Revue de Médecine Vétérinaire** v. 151, n. 7, p. 611-618, 2000

LYKKESFELD, J.; SVENDSEN, O. Oxidants and antioxidants in disease: oxidative stress in farm animals **The Veterinary Journal** v.173, p. 502–511, 2007

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

MALLEM, M. Y.; THULEAU, A.; NOIREAUD, J.; DESFONTIS, J. C.; GOGNY, M. Evaluation of the role of superoxide anions in endotoxin-induced impairment of β -adrenoceptor-mediated vasodilation in equine digital veins **American Journal of Veterinary Research** v. 71, n. 7, p. 773-779, 2010

McCUE, M. E.; GEOR, R. J.; SCHULTZ, N. Equine Metabolic Syndrome: a complex disease influenced by genetics and environment **Journal of Equine Veterinary Science** v. 35, p. 367-375, 2015

MELLO, E B F R B, **Adaptação ao exercício em potros puro-sangue inglês de corrida** 2012. 54 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária. UFRRJ, Seropédica, 2012

MUYLLE, E.; VAN DEN HENDE, C.; DEPREZ, P.; NUYTEN, J.; OYAERT, W. Non-insulin dependent Diabetes Mellitus in a horse **Equine Veterinary Journal** v. 18, n. 2, p. 145-146, 1986

PACINI, G.; TONOLO, G.; SAMBATARO, M.; MAIOLI, M.; CICCARESE, M.; BROCCO, E.; AVOGARO, A.; NOSADINI, R. Insulin sensitivity and glucose effectiveness: minimal model analysis of regular and insulin-modified FSIGT **American Journal of Physiology – Endocrinology and Metabolism** v. 274, p. 592-599, 1998.

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

POLLITT, C. C. Equine laminitis **Clinical Techniques in Equine Practice** v. 3, n. 1, p. 34-44, 2004

POLLITT, C. C. Laminitis in perspective In: POLLITT, C. C. (1ª edição) **Equine Laminitis – Current Concepts** Canberra: Editora: Rural Industries Research and Development Corporation 2008, p. 19-26

POLLITT, C. C. Update on the pathophysiology of laminitis **10th Geneva Congress of Equine Medicine and Surgery**, Genebra, Suíça, 2007

PRATT-PHILLIPS, S. E.; OWENS, K. M.; DOWLER, L. E.; CLONINGER, M. T. Assesment of resting insulin and leptin concentrations and their association with managerial and innate factors in horses **Journal of Equine Veterinary Sciences** v. 30, n. 3, p. 127-133, 2010

RADIN, M. J.; SHARKEY, L. C.; HOLYCROSS, B. J. Adipokines: a review of biological and analytical principles and an update in dogs, cats, and horses **Veterinary Clinical Pathology** v.38, n. 2, p. 136–156, 2009

RATTIGAN, S.; BUSSEY, C. T.; ROSS, R. M.; RICHARDS, S. M. Obesity, insulin resistance, and capillary recruitment **Microcirculation**, v.14, p. 299–309, 2007

SZABO, C. Role of nitrosative stress in the pathogenesis of diabetic vascular dysfunction **British Journal of Pharmacology** v. 156, p. 713–727, 2009

- TILG, H.; MOSCHEN, A. R. Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity **Nature Reviews Immunology** v. 6, p. 772-783, 2006
- TREIBER, K. H.; KRONFELD, D. S.; HESS, T. . M.; BOSTON, R. C.; HARRIS, P. A. Use of proxies and reference quintiles obtained from minimal model analysis for determination of insulin sensitivity and pancreatic beta-cell responsiveness in horses. **American Journal of Veterinary Research** v.66, n.12, p.2114-2121, 2005
- TREIBER, K.; HESS, T. M., KRONFELD, D. S.; BOSTON, R. C.; GEOR, R.; HARRIS, P. A et al Insulin resistance and compensation in laminitis-predisposed ponies characterized by the Minimal Model **Pferdeheilkunde** v. 23, p. 237-240, 2007
- TURNER, S. P.; HESS, T. M.; TREIBER, K.; MELLO, E. B.; SOUZA, B. G.; ALMEIDA, F. Q. Comparison of Insulin Sensitivity of Horses Adapted to Different Exercise Intensities **Journal of Equine Veterinary Science** v. 31, p. 645-649, 2011
- VALLE, E.; D. STORACE, D.; SANGUINETI. R.; CARTER, R.; ODETTI, P.; GEOR, R.; BERGERO, D. Association of the glycoxidative stress marker pentosidine with equine laminitis **The Veterinary Journal** v. 196, p. 445-450, 2013
- VICK, M. M.; ADAMS, A. A.; MURPHY, B. A.; SESSIONS, D. R.; HOROHOV, D. W.; COOK, R. F.; SHELTON, B. J.; FITZGERALD, B. P.. Relationships among inflammatory cytokines, obesity, and insulin sensitivity in the horse. **Journal of Animal Sciences** v.85, p.1144-1155, 2007
- VOTION, D. M.; NAVET, R.; LACOMBE, V. A.; SLUSE, F.; GUSTAVSSON, B. E.; HINCHCLIFF, K. W.; RIVERO, J. L. L.; VALBERG, S. Muscle energetics in exercising horses **Equine and Comparative Exercise Physiology** v. 4, p. 105-118, 2008
- WANG, C. H.; WANG, C. C.; HUANG, H. C.; WEI, Y. H. Mitochondrial dysfunction leads to impairment of insulin sensitivity and adiponectin secretion in adipocytes **FEBS Journal** v. 280, p. 1039–1050, 2013
- WILCOX, G. Insulin and Insulin Resistance. **Clinical Biochemistry Review** v.26, p.19-39, 2005
- WILLS, E. D. Mechanisms of lipid peroxide formation in animal tissues **Biochemistry Journal** v. 99, n. 3, p. 667-676, 1966
- ZENG, G.; QUON, M. J. Insulin-stimulated production of nitric oxide is inhibited by Wortmannin **The Journal of Clinical Investigation** v. 98, n. 4, p. 894–898, 1996
- ZHANG, L.; VINCENT, M. A.; RICHARDS, S. M.; CLERK, L. H.; RATTIGAN, S.; CLARK, M. G.; BARRETT, E. J. Insulin sensitivity of muscle capillary recruitment in vivo **Diabetes** v. 53, 2004

CAPÍTULO III

INFLUÊNCIA DA CONDIÇÃO CORPORAL SOBRE LIPIDOGRAMA E SENSIBILIDADE À INSULINA EM ÉGUAS MANGALARGA MARCHADOR

RESUMO

O aumento das concentrações de indicadores do metabolismo de gorduras é bastante comum em casos diagnosticados de Síndrome Metabólica Equina (SME), mas apesar disto não entra no hall de fatores determinantes para diagnóstico da SME. Para avaliar a influência do escore corporal (EC) nas alterações secundárias associadas à SME, foram avaliados lipidograma, glicemia, concentração de insulina, sensibilidade à insulina (RISQI) e secreção β -pancreática de três grupos de éguas Mangalarga Marchador não-getsantes/não-lactantes em três diferentes categorias de EC (Ideal, Sobrepeso e Obeso). Cada grupo contou com 6 animais. Foram coletadas amostras de sangue em jejum de concentrado para a determinação de concentração plasmática de triglicerídeos, colesterol total, glicose e insulina e a partir dos valores de glicemia e insulinemia foram calculados valores preditivos de sensibilidade à insulina (RISQI) e secreção β -pancreática (MIRG). Houve diferença estatística entre os grupos quando avaliado os níveis de triglicerídeos ($p < 0,01$), sendo que o Grupo Obeso apresentou resultados significativamente superiores aos demais grupos. Foi observada diferença estatística entre os grupos quando avaliado as concentrações de colesterol total ($p = 0,01$), sendo que o Grupo Obeso apresentou resultados significativamente superiores ao Grupo Ideal. Não foi observada diferença estatística entre os grupos nas concentrações plasmáticas de glicose ($p = 0,53$) e insulina ($p = 0,10$). Não foi observada diferença estatística nos valores obtidos de RISQI ($p = 0,46$), mas houve diferença estatística entre os grupos nos valores obtidos de MIRG ($p = 0,05$), sendo que o Grupo Obeso obteve resultados significativamente superiores quando comparado com o Grupo Ideal. O escore corporal influenciou de forma positiva nos resultados do lipidograma e valor preditivo de secreção β -pancreática, sendo encontrados maiores níveis em animais obesos.

Palavras chave: equino, trigliceridemia, colesterolemia, disfunção insulínica, obesidade

ABSTRACT

Increased indicators of fat metabolism are found in Equine Metabolic Syndrome (EMS) subjects although these symptoms are not included in the EMS definition described in the literature and in its diagnosis. 18 mares were allocated in three groups according to body condition status. In Group Ideal there were animals in fit condition (n=6), in Group Overweight, considered in overweight (n=6) and in Group Obese (n=6), animals considered obese. Fasting blood samples were taken to determine triglycerides, total cholesterol, glucose, and insulin concentrations in plasma. Insulin sensitivity proxy (RISQI) and β -pancreatic secretion proxy (MIRG) were calculated from glucose and insulin data. There was a difference between groups in triglycerides levels ($p < 0.01$), where Group Obese had significantly higher concentrations than other groups. Total cholesterol was higher in Group Obese compared to Group Ideal ($p = 0.01$). No differences in plasma glucose ($p = 0.53$) nor insulin ($p = 0.10$) concentrations and insulin sensitivity (RISQI: $p = 0.46$) were seen among groups. Group Obese had a higher β -pancreatic secretion (MIRG: $p = 0.05$) compared to Group Ideal. The increased body condition score influenced the results of fat metabolites and β -pancreatic secretion.

Keywords: horse, triglycerides, hypercholesterolemia, insulin dysfunction, obesity

1. INTRODUÇÃO

Desde os primeiros relatos de uma síndrome associada à obesidade e resistência à insulina há controvérsia acerca da etiopatogenia e fisiopatologia da doença. Kronfeld (2003) foi um dos primeiros pesquisadores a tentar nomear a síndrome, por semelhança aos critérios usados em medicina humana na época. Com o decorrer dos avanços da pesquisa, foi proposto o termo de síndrome de resistência à insulina, onde a resistência à insulina e obesidade eram tidos como fatores predisponentes para o aparecimento de laminite (TREIBER et al., 2006a; TREIBER et al., 2006b; GEOR, 2008).

Essas alterações não se restringem unicamente ao metabolismo energético dos animais, influenciando o sistema cardiovascular (BAILEY et al., 2008) e ciclo estral em éguas (VICK et al., 2006). Em uma publicação de 2010, (FRANK et al., 2010) a Associação Americana de Medicina Veterinária publicou um consenso onde denominava de Síndrome Metabólica Equina (SME) o quadro onde animais apresentavam resistência à insulina, obesidade ou lipodistrofia e histórico de claudicação intermitente ou laminite clínica sem fator predisponente. Recentemente, foi proposta a reavaliação dos critérios diagnóstico da SME. Os cânones propostos por Frank et al., (2010) foram considerados imprecisos em um estudo retrospectivo, onde demonstra que o fenótipo da SME não se restringe ao conjunto animais com claudicação inespecífica ou laminite clínica, à obesidade e ao déficit em sensibilidade à insulina (McCUE; GEOR; SCHULTZ, 2015).

Em humanos obesos, o quadro de lipemia é comum, podendo ou não estar relacionados à disfunção insulínica (WHO,2012). De forma semelhante, a obesidade está relacionada a quadros de alteração do metabolismo de lipídeos em cavalos (HUGHES; HODGSON; DART, 2004; McKENZIE, 2011). Sua avaliação permite um vislumbre da mobilização de ácidos graxos do tecido adiposo para utilização como substrato do metabolismo aeróbico de obtenção de energia. A incidência de obesidade tem impacto em quadros que cursam com dislipidemia (HUGHES; HODGSON; DART, 2004; McKENZIE, 2011), devido à mobilização insulínica independente.

O presente estudo visou comparar diferenças entre os resultados de três grupos de animais em diferentes faixas de escore coroporal (ideal, sobrepeso e obeso) no lipidograma, glicemia de jejum, concentração de insulina plasmática e nos *proxies* calculados de sensibilidade à insulina e responsividade das células β -pancreáticas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Alterações e Distúrbios do Metabolismo Insulino Dependente Relacionados com a Obesidade

O papel da insulina no metabolismo de carboidratos está ligado ao seu papel na modulação de carreadores GLUT-4, manutenção da homeostase da glicose, manutenção das concentrações de glicogênio muscular e hepático, aumento na β -oxidação e também com a utilização do Acetil-CoA na síntese de ácidos graxos. Os tecidos responsivos à insulina, no que se refere ao metabolismo energético, são o tecido adiposo, musculatura e fígado (WILCOX, 2005).

Em cavalos, podem ser observadas alterações do comportamento da função insulínica, metabolismo de lipídeos e também da leptina em indivíduos obesos (FRANK et al., 2006). As concentrações de lipídeo circulantes afetam a sensibilidade à insulina do organismo. Os níveis de ácido graxo circulantes podem ativar mecanismos celulares pró-inflamatórios dependentes de receptores Toll-like-4 que tem ação em mecanismos inibidores da sensibilidade à insulina. Dessa forma, os níveis de ácidos graxos circulantes exacerbam o potencial inflamatório que resulta em inibição da sensibilidade à insulina. O aumento de ácidos graxos circulantes funciona como um mecanismo retroalimentador da dessensibilização da função insulínica (JOHNSON, OLRFSKY, 2013).

2.2. Tecido Adiposo e Adipocinas

O tecido adiposo pode ser dividido em duas classes distintas: o tecido adiposo branco (TAB) e o tecido adiposo marrom (TAM). O TAB é o que se encontra em maior quantidade no organismo e tem função de reserva de energia enquanto o TAM está relacionado à termogênese (FANTUZZI, 2005; RADIN; SHARKEY; HOLYCROSS, 2009). Histologicamente, os dois tipos de tecido podem ser diferenciados segundo sua organização e número de gotas de reserva de triglicérides no citossol. O TAB tem como característica possuir um único e grande loco de reserva de triglicérides enquanto o TAM apresenta incontáveis multilocos. (RADIN; SHARKEY; HOLYCROSS, 2009).

O TAB tem sido considerado um órgão endócrino importante com ação de secreção de diversas substâncias nomeadas adipocinas. Por definição, adipocinas são substâncias biologicamente ativas produzidas pelo tecido adiposo que atuam de forma autócrina, parácrina ou endócrina. Algumas são produzidas exclusivamente pelo tecido adiposo enquanto outras são produzidas por diversos outros tecidos. Sua produção pode ser influenciada pelo sexo e *status* nutricional (RADIN; SHARKEY; HOLYCROSS, 2009).

Em humanos, os adipócitos endocrinamente ativos se concentram no tecido adiposo que forma a gordura visceral, enquanto em cavalos, esse tipo de adipócitos é encontrado principalmente nas regiões adjacente ao ligamento nugal (CARTER et al., 2009b; TINWORTH et al., 2012). Algumas de suas funções tem impacto direto no metabolismo energético, cardiovascular e inflamatório. Alguns exemplos de adipocinas e seus efeitos serão descritos a seguir.

2.2.1. Leptina

A leptina é secretada por adipócitos e sua regulação está correlacionada à quantidade de gordura corporal e fluxo energético (influência de jejum e pós-prandial) nos adipócitos. O receptor de leptina (Ob-R) pode ter várias isoformas e está relacionado aos receptores de

Interleucina-6 (IL-6). Eles são encontrados principalmente nas áreas de saciedade do hipotálamo e algumas isoformas são distribuídas por todo o organismo devido ao seu envolvimento em diversos processos fisiológicos. Sua ação em nível cerebral é na via anorexigênica, aumentando a termogênese. Entre as suas ações periféricas estão a neoangiogênese, supressão de apoptose e ação mitogênica, além da ação no desenvolvimento hipotalâmico durante a vida fetal. Regula também a função reprodutiva e imunológica, assim como a sensibilidade a insulina (RADIN; SHARKEY; HOLYCROSS, 2009).

A hiperleptinemia pode levar ao quadro de resistência orgânica, que está relacionado à obesidade. No entanto, o quadro é seletivo às funções metabólicas, não interferindo nas demais funções no organismo. Esse fato contribui para o desenvolvimento das comorbidades associadas à obesidade, como disfunção cardíaca, renal e vascular. Essas alterações são mediadas em parte pela hiperatividade do sistema Simpático associado a leptina, alteração da geração de óxido nítrico e aumento da produção de endotelina, além de aumentar o estresse oxidativo e a concentração de moléculas de adesão em nível endotelial. Devido as suas ações, ela é considerada pró-inflamatória, pró-trombótica e pró-oxidante, com os efeitos modulados pela adiponectina, que tem função oposta (RADIN; SHARKEY; HOLYCROSS, 2009).

Outro fator a ser considerado é a influência da hiperleptinemia no aparecimento do quadro de resistência à insulina. A leptina em concentrações elevadas inibe a ação da insulina (COHEN; NOVICK; RUBISTEIN, 1996; ANGULO et al., 2004).

Em cavalos, a leptina também apresenta um comportamento proporcional ao aumento do escore dos animais (KEARNS et al., 2006), sendo que quadros de hiperleptinemia se encontram associados a obesidade, resistência à insulina e também a uma baixa capacidade da modulação do estresse oxidativo (PLEASANT et al., 2013).

2.2.2. Adiponectina

A adiponectina é uma proteína de produção específica pelos adipócitos que tem sua produção modulada pelo estado nutricional (COSTA; DUARTE, 2006). Tem papel importante na manutenção da sensibilidade a insulina (FANTUZZI, 2005) e apresenta um perfil contrário a leptina, sendo que níveis menores de adiponectina são encontrados em indivíduos obesos e com quadros de resistência à insulina e níveis aumentados em indivíduos anoréxicos (COSTA; DUARTE, 2006; FANTUZZI, 2005). Os efeitos mais bem caracterizados da adiponectina se referem ao aumento da sensibilidade à insulina, ação anti-inflamatória e inibição de aterosclerose (RADIN; SHARKEY; HOLYCROSS, 2009).

Ela regula a homeostasia dos lipídeos e da glicose através de ação sinérgica com a insulina, mantendo a glicemia e aumentando a β -oxidação de triglicerídeos (COSTA; DUARTE, 2006). Adicionalmente, aumenta a sensibilidade a insulina através do aumento da fosforilação da proteína quinase ativada por adenosina monofosfato (AMPK), que aumenta a translocação de receptores do transportador de glicose do tipo 4 (GLUT-4) sensíveis a insulina à superfície celular, aumentando dessa maneira a glicólise pela fosforilação de fosfofrutoquinase e aumentando a oxidação de ácidos graxos pela inativação da enzima acetilCoA carboxilase (RADIN; SHARKEY; HOLYCROSS, 2009).

Sua ação anti-inflamatória deve-se a diminuição de produção e inibição da ação do fator de necrose tumoral α (TNF- α), diminuição da produção da IL-6, com consequente indução da produção de Interleucina-10 (IL-10) e antagonista da Interleucina-12 (IL-12) (COSTA; DUARTE, 2006). Quadros de baixas concentrações de adiponectina podem estar correlacionados ao aumento de TNF- α secretado pelo TAB (FANTUZZI, 2005)

Ela promove vasodilatação através do aumento da expressão endotelial de óxido nítrico-sintase (eNO-S) e da estimulação que o aumento de AMPK, levando a um aumento da produção de óxido nítrico (NO) (RADIN; SHARKEY; HOLYCROSS, 2009).

2.2.3. Adipocinas de ação cardiovascular

No grupo das moléculas com função cardiovascular podemos citar moléculas relacionadas ao sistema renina-angiotensina e o inibidor de ativação do plasminogênio (PAI-1). Em humanos, os níveis de PAI-1 estão diretamente correlacionados ao acúmulo de gordura visceral. São produzidos pelo tecido adiposo todos os componentes do eixo renina-angiotensina. Os adipócitos expressam receptores da angiotensina II (AT -II) (COSTA; DUARTE, 2006). A produção local de AT-II em depósitos de gordura parece estar relacionada com a diferenciação do adipócito, seu tamanho e com a sensibilidade a insulina (RADIN; SHARKEY; HOLYCROSS, 2009). A sua ativação promove a diferenciação do pré-adipócito e induz a lipogênese, o que sugere um papel do eixo na regulação do metabolismo e do peso corporal. A produção de angiotensinogênio no tecido adiposo é regulada pelo status nutricional (COSTA; DUARTE, 2006).

Além dos efeitos vasoativos, o aumento da atividade do sistema renina-angiotensina contribui para a inflamação em nível local do tecido adiposo. A angiotensina II também impacta a sensibilidade a insulina através da inibição da translocação de GLUT4. Existem estudos que documentam a ativação do Sistema renina-angiotensina em cães, mas o impacto das alterações em equinos ainda não foi caracterizado (RADIN; SHARKEY; HOLYCROSS, 2009).

2.2.4. Fator de Necrose Tumoral α e Interleucina-6 (TNF- α e IL-6)

Um aumento dos marcadores inflamatórios pode ser observado na SME (FRANK et al. 2010). A IL-6 e o TNF- α são as duas citocinas mais estudadas em quadros de obesidade. Elas têm aumento consistente no soro e/ou TAB em indivíduos obesos (FANTUZZI, 2005)

O TNF- α é uma citocina pró-inflamatória produzida pelo tecido muscular, adiposo e linfóide. Ele diminui a resposta à insulina através da diminuição da expressão na superfície celular dos transportadores GLUT-4, fosforilação do substrato dos receptores de insulina (IRS-1) e fosforilação específica do receptor da insulina (COSTA; DUARTE, 2006).

O depósito de gordura observado em equinos na região do ligamento da nuca se comporta de forma semelhante à observada na gordura visceral de humanos (CARTER et al., 2009a). Equinos com maior depósito de tecido adiposo na área do pescoço tem uma maior expressão do RNAm das citocinas inflamatórias IL-1 e IL-6 (BURNS et al., 2010). Outros autores encontram uma correlação positiva entre resistência à insulina e níveis de RNAm de TNF- α e concentrações de TNF- α , além de correlação positiva entre obesidade e expressão de IL-1 e IL-6 (VICK et al., 2007). Foi encontrado o aumento de receptores *Toll-like* do tipo 4 (TLR-4) em tecidos de cavalos insulinoresistentes quando comparados com animais saudáveis, secundário a um aumento do TNF- α circulante (WALLER et al., 2012)

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Animais e Critérios de Amostragem

O contato com os haras de criação da raça Mangalarga Marchador foi realizado através dos respectivos veterinários responsáveis. Durante a fase de triagem, os animais foram categorizados segundo escore corporal (EC) (HENNEKE et al., 1983) para montagem dos grupos testados. Desta forma, foram selecionadas 18 éguas não-gestantes/não-lactantes, com mediana de idade de 7,5 (11) anos. Os animais foram distribuídos em grupos de acordo com seu escore corporal (HENNEKE et al., 1983). Foi atribuída a variação 0,5 ponto no EC de forma a denotar transição entre categorias. O Grupo 1 foi composto por 6 éguas EC 4,5 a 5,5, no Grupo 2, 6 éguas com EC 6 a 7 e no Grupo 3, 6 éguas com EC 7,5 a 9.

Os animais no estudo se encontravam clinicamente sadios. O exame clínico dos animais constituiu-se de resenha, onde os animais foram identificados por nome e em seguida numerados. Os animais, em sua totalidade, eram éguas não-gestantes/não-lactantes. Foi feita breve anamnese, onde a pessoa mais próxima à rotina do cavalo respondeu questões sobre história médica recente e pregressa e fatores sobre o ambiente e manejo do animal avaliado e da propriedade. Foi realizado exame físico levando em conta o estado geral do animal e parâmetros vitais. Foi realizado exame de inspeção e palpação para detecção de claudicação (FEITOSA, 2008). Animais que apresentassem febre, feridas abertas, dificuldade respiratória, claudicação ou lesão aparente de qualquer origem ao exame físico ou prenhes foram excluídos da seleção.

Foi realizado hemograma completo em contador automático de células¹⁰ e determinação de fibrinogenemia pela diferença dos valores obtidos por refratometria da proteína total em soro fluoretado e após processo de desnaturação a 56°C por 3 minutos (ECKERSALL, 2008) na triagem, para excluir animais que apresentassem alterações hematológicas.

3.2. Escore de Condição Corporal

Durante a fase de triagem, os animais foram categorizados segundo escore corporal (HENNEKE et al., 1983) para montagem dos grupos testados.

3.3. Amostras

Foram realizadas coletas de alíquotas sanguíneas por punção da veia jugular para determinação de colesterolemia total, trigliceridemia, glicemia e insulinemia de jejum parcial dos animais selecionados. Foram coletadas amostras de sangue em tubos de coleta de sangue a vácuo contendo anticoagulante fluoreto de potássio para posterior determinação da glicemia e anticoagulante heparina sódica para determinação de insulinemia, colesterolemia total, trigliceridemia. Os animais se encontravam sem ingerir concentrado energético há pelo menos 8 horas. Animais que se mostraram indóceis à coleta foram descartados para não haver alterações na glicemia devido à resposta estressogênica do cortisol.

Depois de colhidas, as amostras foram imediatamente acondicionadas em recipiente tipo *cooller* contendo água e gelo e prontamente centrifugadas a 2000 g, ainda no local de coleta. Foram separadas alíquotas do plasma sobrenadante acondicionadas em microtubos de 1,5 ml. As amostras foram transportadas em recipiente tipo *cooller* sobre refrigeração até o

¹⁰pocH-100iV Diff® (Sysmex Brasil Indústria e Comércio LTDA®)

Laboratório de Pesquisas Clínicas em Grandes Animais (ClinLab) da UFRRJ, onde foram acondicionadas em *freezer* -20°C para posterior análise.

3.4. Determinação de Colesterol Total e Triglicerídeos Plasmáticos

Alíquotas de plasma heparinizado foram utilizadas para determinação da concentração plasmática de colesterol total e triglicerídeos¹¹, utilizando-se kits comercialmente disponíveis, de acordo com as recomendações do fabricante. O material foi processado no Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV) da UFRRJ, em analisador bioquímico automatizado¹².

3.5. Determinação de Glicemia, Concentração de Insulina Plasmática e Cálculo de Proxies de Sensibilidade à Insulina

Alíquotas de plasma fluoretado foram utilizadas para a determinação da glicemia¹³, utilizando-se kits comercialmente disponíveis, de acordo com as recomendações do fabricante. O material foi processado no Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV) da UFRRJ, em analisador bioquímico automatizado¹⁴.

As concentrações de insulina foram determinadas em duplicata por meio de radioimunoensaio sanduíche de fase sólida¹⁵ (OBA, 2014 – comunicação pessoal, dados não publicados). As análises foram realizadas no laboratório de Biofísica do Departamento de Ciências Fisiológicas da UFRRJ. Foi medida a insulina *in natura* das amostras. Para a execução do teste, os padrões, controles e amostras foram incubados em tubos revestidos com um primeiro anticorpo monoclonal na presença de um reagente contendo o segundo anticorpo monoclonal radio marcado com I¹²⁵. Depois de incubado, os tubos foram lavados com a solução de enxágue para retirar anticorpos radio marcados que não se ligaram à insulina. A determinação da radioatividade da ligação foi feita em aparelho gammacounter. As concentrações das amostras foram obtidas através de interpolação com a curva padrão usando programa de dados Graphpad Prism 5.0, sendo os dados obtidos diretamente proporcionais a radioatividade medida.

Os dados obtidos de glicemia e insulina plasmática foram submetidos às equações propostas por Treiber et al. (2005) para se obter os valores de predição da sensibilidade a insulina e da responsividade secretória de insulina das células β pancreáticas a glicose.

Para determinação da sensibilidade a insulina, os dados de insulina plasmática foram utilizados na equação que determina o recíproco quadrado inverso da insulina basal (do inglês: RISQI), onde:

$$RISQI = \frac{1}{\sqrt{\text{insulina basal}}} = \text{insulina basal}^{-0.5}$$

Para determinação da responsividade secretória de insulina das células β pancreáticas a glicose, os dados de glicemia e insulinemia foram utilizados na equação que determina a razão modificada insulina-glicose (do inglês: MIRG), onde:

$$MIRG = \frac{[800 - 0.30 \times (\text{insulina basal} - 50)^2]}{(\text{glicose basal} - 30)}$$

¹¹ Biosystems®

¹² A15® (Biosystems®)

¹³ Biosystems®

¹⁴ A15® (Biosystems®)

¹⁵ Insulin(e) IRMA Kit® (Beckman Coulter®)

3.6. Análises Estatísticas

A normalidade dos dados foi testada usando-se o teste de Shapiro Wilk. Dados que aceitaram a distribuição gaussiana foram testados por testes paramétricos. Dados com distribuição não-normal foram submetidos a transformação através da função $y = \log(y)$. Se após o processo, assumiram distribuição normal, foram testados com estatística paramétrica. Se a condição de normalidade não foi aceita, testes não-paramétricos foram executados. Dados categóricos foram submetidos a estatística não-paramétrica.

As análises foram realizadas utilizando o método de ANOVA 1way como teste paramétrico, com subsequente teste de Tukey entre colunas e como método não-paramétrico foi utilizado Kruskal-Wallis, com subsequente teste de Dunn entre colunas. Dados normais foram expressos em média e desvio padrão, dados categóricos e não-normais foram expressos em mediana e amplitude. Foi respeitado o nível de significância a 5% em todos os testes utilizados.

Para a execução dos procedimentos estatísticos, foram utilizados os programas de dados Action Stat v. 3.1.43.702.667 e GrafPad Prism 5.0.

4. RESULTADOS

A variação do escore corporal (EC) dos animais foi avaliada ($p < 0,01$). Os animais do Grupo 1 apresentavam mediana e amplitude 5,0 (0,0), 6,0 (0,5) no Grupo 2 e 8,0 (0,5) no Grupo 3 (Figura 8), sendo o EC do Grupo 3 significativamente maior quando comparado ao Grupo 1.

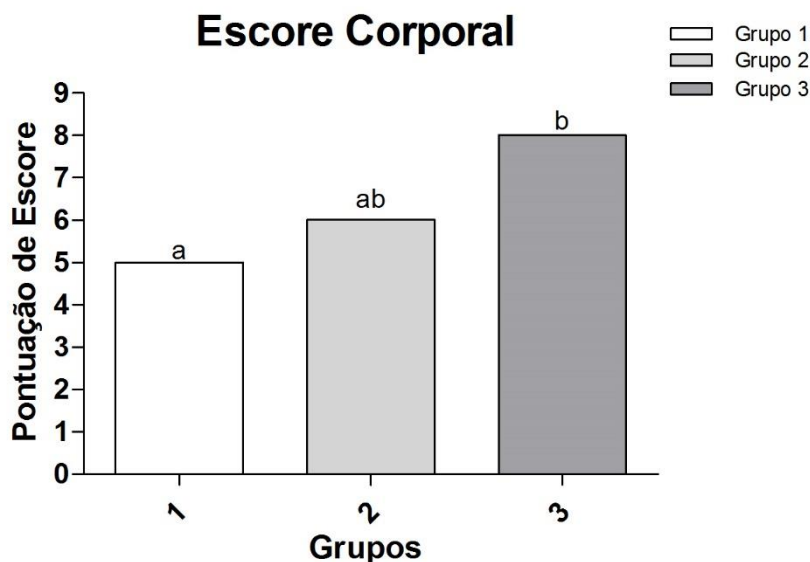


Figura 8: Medianas do escore corporal observado nos grupos. Colunas assinaladas com mesma letra não diferiram estatisticamente no teste de Dunn ao nível de significância de 5%.

Foi observada diferença entre os grupos quando avaliadas as concentrações de triglicerídeos ($p < 0,01$), sendo que animais obesos tiveram resultados significativamente superiores aos demais grupos. Também foi encontrada diferença estatística nos resultados de concentração de colesterol total ($p = 0,01$), sendo que animais obesos tiveram resultados significativamente superiores aos encontrados no grupo formado por escore ideal. Não houve diferença entre os diferentes grupos quando avaliados os resultados de glicemia basal ($p = 0,53$) e concentração de insulina ($p = 0,10$), assim como do valor preditivo de sensibilidade à insulina (RISQI: $p = 0,46$). Houve diferença estatística quando avaliada secreção β -pancreática (MIRG: $p = 0,05$), sendo que animais obesos tiveram resultados significativamente superiores quando comparados a animais classificados em escore ideal. Quando observada a alocação em quintis, os grupos não tiveram diferença na sensibilidade à insulina (quintil de RISQI: $p = 0,30$) enquanto os animais obesos apresentaram quintis maiores que animais em escore ideal (quintil de MIRG: $p = 0,01$) (Tabela 7).

Tabela 7: Média e desvio padrão dos valores de colesterol, glicemia, triglicerídeos, concentração de insulina e *proxies* calculadas RISQI e MIRG e mediana e amplitude de valores observados no estudo. Houve influência do escore EC nos parâmetros triglicerídeos (TG), colesterol total (COL), secreção β -pancreática (MIRG) e alocação dos dados de MIRG em quintil (QUINT_{MIRG})

Parâmetros	Ideal	Sobrepeso	Obeso
TG (mg/dl)	8,2 \pm 5,19 ^a	4,8 \pm 2,40 ^a	31,0 \pm 17,82 ^b
COL (mg/dl)	64,83 \pm 14,65 ^a	87,83 \pm 9,453 ^{ab}	106,0 \pm 30,98 ^b
GLC (mg/dl)	88,00 \pm 12,07 ^a	84,83 \pm 1,472 ^a	82,67 \pm 6,919 ^a
INS (mUI/L)	9,11 (17,35) ^A	7,39 (26,84) ^A	16,42 (21,4) ^A
RISQI (mUI/L _{ins}) ^{-0,5}	0,338 (1,363) ^A	0,368 (0,227) ^A	0,284 (0,449) ^A
MIRG U _{ins} ² /(10.L.mg _{glc})	4,69 \pm 2,28 ^a	6,30 \pm 3,67 ^{ab}	9,13 \pm 2,53 ^b
QUINTRISQI (1 – 5)	2,5 (4,0) ^A	3,0 (3,0) ^A	1,0 (4,0) ^A
QUINT_{MIRG} (1 – 5)	3,5 (4,0) ^A	4,0 (2,0) ^{AB}	5,0 (0,0) ^B

*Médias e desvio padrão seguidos de mesma letra minúscula na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey no nível de 5% de significância. Médias e desvio padrão seguidos de mesma letra grega na linha sofreram normalização a partir da função $y = \log(y)$ e não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey no nível de 5% de significância. Medianas e amplitudes seguidas da mesma letra maiúscula na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Dunn no nível de 5%.

** EP: escore de pescoço; %_{gord}: porcentagem de gordura; COL: colesterol total, TG: triglicerídeos; GLC: glicemia; INS: concentração de insulina plasmática; RISQI: *proxy* de sensibilidade à insulina (reciprocal of the square root of insulin); MIRG: *proxy* de secreção β -pancreática (modified insulin-to-glucose ratio); QUINT_{RISQI}: quintil de RISQI; QUINT_{MIRG}: quintil de MIRG

5. DISCUSSÃO

Uma das funções da insulina é aumentar a captação tecidual de glicose e converter os excedentes em reservas energéticas como glicogênio e depósitos de gordura. Níveis fisiológicos de insulina agem inibindo a ação da lipase hormônio sensível (LHS), responsável pela clivagem de triglicerídeos como via alternativa de manutenção de glicemia a partir do glicerol, liberando na circulação ácidos graxos livres (AGL). (McKENZIE, 2011). Os animais do Grupo Obeso, considerados obesos, demonstraram ter depósitos de gordura significativamente maiores que dos demais grupos e valor preditivo de sensibilidade à insulina (RISQI) numericamente inferior aos demais grupos com valor preditivo de secreção β -pancreática (MIRG) significativamente superior ao Grupo Ideal.

Em situações de homeostasia, os AGL circulantes são captados pelo fígado para esterificação em triglicerídeos. No fígado também há a metabolização de triglicerídeos em lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL). Em casos onde há o aumento de substrato, há a tendência de acúmulo dessas lipoproteínas na corrente sanguínea (McKENZIE, 2011). No presente estudo, as concentrações de colesterol total se encontravam significativamente aumentadas no Grupo Obeso quando comparadas ao Grupo Ideal. McCue; Geor e Schultz (2015) citam o aumento de das porções HDL e VLDL colesterol como fatores associados ao fenótipo da SME. O aumento de frações de colesterol vai ter impacto nas concentrações de colesterol total.

O aumento da concentração de triglicerídeos pode interferir com inúmeras funções fisiológicas, inclusive, de forma parácrina, na ação da insulina induzindo a um quadro de resistência ao hormônio (McKENZIE, 2011). A quantidade de lipídeos influencia na sensibilidade à insulina no miócito e hepatócito. O quadro está associado ao déficit na oxidação de glicose devido à inibição da piruvato desidrogenase na via glicolítica. Em um primeiro momento, a quantidade intracelular de depósitos de gordura vai afetar a sensibilidade a insulina por defeitos no mecanismo de mobilização de receptores GLUT-4 (SAMUEL; SHULMAN, 2012). Quanto mais resistente as células ao efeito da insulina, maiores os níveis secretados para captação de glicose, aumentando a secreção β -pancreática. Os valores de TG do Grupo 3 foram significativamente superiores aos demais grupos. O quadro de hipertrigliceridemia associado a resistência à insulina foi observado anteriormente por diversos autores em estudos com pôneis (TREIBER et al., 2006a; BAILEY et al., 2008; CARTER et al., 2009a).

Apesar de não observada diferença estatística entre os quintis de RISQI, animais obesos se encontravam numericamente alocados no primeiro quintil, o que é interpretado como animais extremamente resistentes à insulina. Os animais do grupo tiveram resultados de quintil de MIRG significativamente superiores ao grupo ideal, estando no mais alto quintil. Maior resposta da secreção β -pancreática com manutenção de níveis ótimos de sensibilidade à insulina indicam um mecanismo de compensação (MELLO, 2012).

6. CONCLUSÃO

O acúmulo excessivo de tecido adiposo subcutâneo em éguas MM, caracterizando quadro de obesidade está associado a um aumento dos valores preditivos de secreção β -pancreática (MIRG) e dislipidemia devido ao aumento das concentrações plasmáticas de colesterol e triglicerídeos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANGULO, P.; ALBA, L. M.; PETROVIC, L. M.; ADAMS, L. A.; LINDOR, K. D.; JENSEN, M. D. Leptin, insulin resistance, and liver fibrosis in human nonalcoholic fatty liver disease **Journal of Hepatology** v. 41, n. 6, p. 943–949, 2004
- BAILEY, S. R.; HABERSHON-BUTCHER, J. L.; RANSOM, K. J.; ELLIOT, J.; MENZIES-GOW, N. J. Hypertension and insulin resistance in a mixed-breed population of ponies predisposed to laminitis **American Journal of Veterinary Research** v. 69, n. 1, p. 122-129, 2008
- BURNS, T. A.; GEOR, R. J.; MUDGE, M. C.; McCUTCHEON, L. J.; HINCHCLIFF, K. W.; BELKNAP, J. K. Proinflammatory cytokine and chemokine gene expression profiles in subcutaneous and visceral adipose tissue depots of insulin-resistant and insulin-sensitive light breed horses **Journal of Veterinary Internal Medicine** n.24, p.932–939, 2010
- CARTER, R. A.; GEOR, R. J.; STANIAR, W. B.; CUBITT, T. A.; HARRIS, P. A. Apparent adiposity assessed by standardised scoring systems and morphometric measurements in horses and ponies **The Veterinary Journal** v. 179, n. 2, p. 204-210, 2009a
- CARTER, R. A.; TREIBER, K. H.; GEOR, R. J.; DOUGLAS, L.; HARRIS, P. A. Prediction of incipient pasture-associated laminitis from hyperinsulinemia, hyperleptinemia and generalized and localized obesity in a cohort of ponies **Equine Veterinary Journal** v. 41, n. 2, p. 171-178, 2009b
- COHEN, B.; NOVICK, D.; RUBINSTEIN, M. Modulation of Insulin Activities by Leptin **Science** v. 274, n. 5290, pp. 1185-1188, 1996
- COSTA, J. V.; DUARTE, J. S. Tecido adiposo e adipocinas **Acta Medica Portuguesa** v. 19, p. 251-256, 2006
- ECKERSALL, P. D. Proteins, proteomics, and the dysproteinemias in clinical biochemistry of domestic animals In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. (6ª edição) **Clinical Biochemistry of Domestic Animals** San. Diego: Academic Press, 2008, p. 117-151
- FANTUZZI, G Adipose tissue, adipokines, and inflammation **Journal of Allergy and Clinical Immunology** v. 115, n. 5, 2005
- FEITOSA, F. L. F. Introdução à semiologia In: FEITOSA, F. L. F. (2ª edição) **Semiologia Veterinária – a arte do diagnóstico** São Paulo: Editora ROCA 2008, p. 1-27
- FRANK, N.; ELLIOTT, S. B.; BRANDT, L. E.; KEISLER, D. H. Physical characteristics, blood hormone concentrations, and plasma lipid concentrations in obese horses with insulin resistance **Journal of American Veterinary Medicine Association**, v. 228, n. 9, p. 1383-1390, 2006
- FRANK, N.; GEOR, R. J.; BAILEY, S. R.; DURHAM, A. E.; JOHNSON P. J. Equine Metabolic Syndrome **Journal of Veterinary Internal Medicine** v.24, p.467–475, 2010.

GEOR, R. J. Metabolic predispositions to laminitis in horses and ponies: obesity, insulin resistance and metabolic syndromes **Journal of Equine Veterinary Science** v. 28, n. 12, p. 753-759, 2008

HENNEKE, D. R POTTER, G. D.; KREIDER, J. L.; YEATES, B. F. Relation between condition score, physical measurements and body fat percentage in mares. **Equine Veterinary Journal**, v. 15, p. 371-372, 1983.

HUGHES, K. J.; HODGSON, D. R.; DART, A. J. Equine hyperlipaemia: a review **Australian Veterinary Journal** v. 8, n 3, 2004

JOHNSON, A. M. F.; OLEFSKY, J. M. The origins and drivers of insulin resistance **Cell** v. 152, n. 4, p. 673–684, 2013

KEARNS, C. F.; MCKEEVER, K. H.; ROEGNER, V.; BRADY, S. M.; MALINOWSKI, K. Adiponectin and leptin are related to fat mass in horses **The Veterinary Journal** v. 172, p. 460-465, 2006

KRONFELD, D. S. Equine Syndrome X, the Metabolic Disease, and Equine Grain-Associated Disorders: Nomenclature and Dietetics. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.23, n. 12, p.567-569, 2003.

McCUE, M. E.; GEOR, R. J.; SCHULTZ, N. Equine Metabolic Syndrome: a complex disease influenced by genetics and environment **Journal of Equine Veterinary Science** v. 35, p. 367-375, 2015

McKENZIE, H. C. Equine hyperlipidemias **Veterinary Clinics, Equine** v. 27, p. 59-72, 2011

MELLO, E B F R B, **Adaptação ao exercício em potros puro-sangue inglês de corrida** 2012. 54 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária. UFRRJ, Seropédica, 2012

PLEASANT, R.S.; SUAGEE, J.K.; THATCHER, C.D.; ELVINGER, F.; GEOR, R.J. Adiposity, Plasma Insulin, Leptin, Lipids, and Oxidative Stress in Mature Light Breed Horses **Journal of Veterinary Internal Medicine** v. 27, n. 3, p. 576–582, 2013

RADIN, M. J.; SHARKEY, L. C.; HOLYCROSS, B. J. Adipokines: a review of biological and analytical principles and an update in dogs, cats, and horses **Veterinary Clinical Pathology** v.38, n. 2, p. 136–156, 2009

SAMUEL, V. T.; SHULMAN, G. I. Mechanisms for insulin resistance: common threads and missing links **Cell** v. 148, n. 5, p. 852–871, 2012

TINWORTH, K. D.; BOSTON, R. C.; HARRIS, P. A.; SILLENCE, M. N.; RAIDAL, S. L.; NOBLE, G. K. The effect of oral metformin on insulin sensitivity in insulin-resistant ponies **The Veterinary Journal** v. 191, n. 1, p. 79-84, 2012

TREIBER, K. H.; KRONFELD, D. S.; GEOR, R. J. Insulin resistance in equids: possible role in laminitis. **Journal of Nutrition** v. 136; p. 2094S–2098S; 2006b

TREIBER, K. H.; KRONFELD, D. S.; HESS, T. . M.; BOSTON, R. C.; HARRIS, P. A. Use of proxies and reference quintiles obtained from minimal model analysis for determination of

insulin sensitivity and pancreatic beta-cell responsiveness in horses. **American Journal of Veterinary Research** v.66, n.12, p.2114-2121, 2005

TREIBER, K. H.; KRONFELD, D. S.; HESS, T. M.; BYRD, B. M.; SPLAN, R. K.; STANIAR, W. B. Evaluation of genetic and metabolic predispositions and nutritional risk factors for pasture-associated laminitis in ponies **Journal of American Veterinary Medicine Association**, v. 228, n. 10, 1538-1545, 2006a

VICK, M. M.; ADAMS, A. A.; MURPHY, B. A.; SESSIONS, D. R.; HOROHOV, D. W.; COOK, R. F.; SHELTON, B. J.; FITZGERALD, B. P.. Relationships among inflammatory cytokines, obesity, and insulin sensitivity in the horse. **Journal of Animal Sciences** v.85, p.1144-1155, 2007

VICK, M. M.; SESSIONS, D. R.; MURPHY, B. A.; KENNEDY, E. L.; REEDY, S. E.; FITZGERALD, B. P. Obesity is associated with altered metabolic and reproductive activity in the mare: effects of metformin on insulin sensitivity and reproductive cyclicity **Reproduction, Fertility and Development** v.18, p.609–617, 2006

WALLER, A.P.;HUETTNER, L.; KOHLER, K.; LACOMBE, V.A. Novel link between inflammation and impaired glucose transport during equine insulin resistance **Veterinary Immunology and Immunopathology** v. 149, p. 208–215, 2012

WILCOX, G. Insulin and Insulin Resistance. **Clinical Biochemistry Review** v.26, p.19-39, 2005

WORLD HEALTH ORGANIZATION Obesity **WHO**, 2012 disponível em <http://www.who.int/topics/obesity/en/>, acessado em 24/02/2016

CONCLUSÃO GERAL

Em comum aos três experimentos, observou-se influência do escore corporal (EC) dos animais em parâmetros da função insulínica. Na raça Mangalarga Marchador, animais acima do escore ideal apresentam disfunção insulínica, com maior necessidade secreção β -pancreática para manter níveis normais de glicemia.

ANEXO 1: Aprovação do protocolo experimental pelo Comitê de Ética no Uso de Animais



Fundação de Apoio à Pesquisa Científica e Tecnológica da UFRRJ

Seropédica 06 de fevereiro de 2013

DECLARAÇÃO

Declaramos para os devidos fins que foi aprovado o protocolo intitulado **“OBESIDADE E SINDROME METABÓLICA EM EQUINOS DA RAÇA MANGALARGA MARCHADOR, NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO, BRASIL”**, encaminhado pelo (a) Professor (a) do Departamento de Medicina e Cirurgia Veterinária do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Paulo de Tarso Landgraf Botteon. Informamos que foi aprovado em reunião ordinária da CEUA-FAPUR realizada no dia 06 de fevereiro de 2013, após avaliação do plenário da referida Comissão.

Coordenador da CEUA-FAPUR

Fabio Barbour Scott

Coordenador CEUA-FAPUR

ANEXO 2: Termo de Livre Consentimento Esclarecido/Amostra Basais

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Senhor(a) Responsável,

Solicito autorização para realizar as atividades relacionadas ao desenvolvimento da pesquisa “Obesidade e Síndrome Metabólica Equina em animais da raça Mangalarga Marchador” (FAPERJ) na propriedade de sua responsabilidade. Durante a execução dos procedimentos será realizado exame clínico geral e específico ao objeto de pesquisa e coletas de amostras de sangue. Todas as informações coletadas serão apresentadas apenas para fins acadêmicos e científicos na área de clínica veterinária.

- **Informações sobre a Pesquisa:**

O objetivo do projeto é diagnosticar a ocorrência de obesidade, pelos métodos disponíveis na prática clínica, e da SME em cavalos da raça MM.

A obesidade em cavalos é um quadro subdiagnosticado. A falta de domínio de métodos diagnósticos simples e desconhecimento das complicações relacionadas ao quadro é um fator de risco a saúde animal. Sistemas de criação baseados no fornecimento de rações ricas em energia e confinamento favorecem a ocorrência de obesidade. O quadro está relacionado a alterações metabólicas, dentre as quais está a Síndrome Metabólica Equina (SME). Nela é observada resistência à insulina, obesidade ou lipodistrofia e predisposição para o desenvolvimento de laminite. Entende-se hoje há uma predisposição genética para o aparecimento da SME. Sabe-se que dentro da raça Mangalarga Marchador (MM) existem poucas linhagens, favorecendo a cossanguinidade, o que pode trazer seleção de características deletérias à saúde animal, como a predisposição à obesidade e SME.

Será necessária uma única visita à propriedade de vossa responsabilidade, quando serão selecionados, de forma aleatória até 25% do plantel, com número máximo de 25 animais participantes por propriedade, exclusivamente com registro provisório ou definitivo junto à associação da raça. A visita de nossa equipe será feita em acordo com o horário de arração dos animais, previamente combinado com vossa senhoria, de modo que os animais se encontrem em jejum parcial pelo período da noite. Os animais selecionados passarão por exame clínico, a fim de obter resenha dos animais quanto a fatores relevantes ao quadro, como idade, sexo e manejo e histórico clínico, assim como serão executados exame físico e de imagem específicos para o quadro de obesidade. Serão coletadas 3 amostras de sangue dos animais, totalizando aproximadamente 30 ml de sangue. Nenhum dos procedimentos trará risco algum à saúde dos animais envolvidos nos procedimentos. Os resultados não serão associados ao nome da propriedade de origem, de forma a manter o sigilo dos dados obtidos.

Os dados obtidos poderão auxiliar a traçar metodologia de manejo de animais que se encontrem obesos e diagnosticados como portadores de SME ou em risco de desenvolvimento da mesma. Os resultados servirão para diagnóstico de condições ainda não estudadas dentro da raça, podendo trazer à luz um diagnóstico diferencial para casos de laminite sem fator associado prévio que por ventura aconteçam nos animais e distúrbios endocrinometabólicos como o hipotireoidismo.

Para maiores informações sobre a pesquisa, sinta-se à vontade de entrar em contato:

- Pesquisador responsável:
Paulo de Tarso Landgraf Botteon:
paulobotteon@gmail.com
- Colaboradora:
Erica Bertha Fuhrich Raupp Bezerra de Mello
bezerrademello.ebfr@gmail.com (Celular: (11) 99201-2476)
- Comitê de Ética da UFRRJ:
(21) 2681-4707; 2682-1220

ANEXO 3: Termo de Livre Consentimento Esclarecido/ Teste Dinâmico

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Senhor(a) Responsável,

Solicito autorização para realizar as atividades relacionadas ao desenvolvimento da pesquisa “Obesidade e Síndrome Metabólica Equina em animais da raça Mangalarga Marchador” (FAPERJ) na propriedade de sua responsabilidade. Durante a execução dos procedimentos será realizado exame clínico geral e específico ao objeto de pesquisa e coletas de amostras de sangue. Todas as informações coletadas serão apresentadas apenas para fins acadêmicos e científicos na área de clínica veterinária.

- **Informações sobre a Pesquisa:**

O objetivo do projeto é diagnosticar a ocorrência de obesidade, pelos métodos disponíveis na prática clínica, e da SME em cavalos da raça MM

A obesidade em cavalos é um quadro subdiagnosticado. A falta de domínio de métodos diagnósticos simples e desconhecimento das complicações relacionadas ao quadro é um fator de risco a saúde animal. Sistemas de criação baseados no fornecimento de rações ricas em energia e confinamento favorecem a ocorrência de obesidade. O quadro está relacionado a alterações metabólicas, dentre as quais está a Síndrome Metabólica Equina (SME). Nela é observada resistência à insulina, obesidade ou lipodistrofia e predisposição para o desenvolvimento de laminite. Entende-se hoje há uma predisposição genética para o aparecimento da SME. Sabe-se que dentro da raça Mangalarga Marchador (MM) existem poucas linhagens, favorecendo a cossanguinidade, o que pode trazer seleção de características deletérias à saúde animal, como a predisposição à obesidade e SME.

Serão necessárias duas visitas à propriedade de vossa responsabilidade, onde animais da raça Mangalarga Marchador serão previamente avaliados e selecionados na primeira visita e na segunda, serão submetidos a um teste dinâmico de sensibilidade à insulina. A segunda visita de nossa equipe será feita em acordo com o horário de arraçoamento dos animais, previamente combinado com vossa senhoria, de modo que os animais se encontrem em jejum parcial pelo período da noite. Os animais selecionados passarão por exame clínico e histórico clínico, assim como serão executados exame físico e de imagem específicos para o quadro de obesidade. Durante o procedimento do teste dinâmico de sensibilidade à insulina, os animais terão acesso exclusivamente a feno de capim *Coast Cross* e água *ad libitum* até o fim do ensaio. Após o procedimento, os animais poderão ser alimentados como de costume na prática de manejo da propriedade.

Será realizada antissepsia da região média do bordo ventral do pescoço onde será canulada a veia jugular usando cateter 14G. Neste, será acoplado um extensor a fim de facilitar a manipulação da via e evitar sua perda. Tanto o cateter quanto o extensor serão suturados junto à pele do animal para sua fixação. Serão realizadas no total 14 coletas de amostras de sangue no decorrer de aproximadamente 3 horas, totalizando aproximadamente 200 ml de volume. Os animais serão constantemente avaliados para determinação de glicemia com glicosímetro portátil e em caso de detecção de níveis críticos, o animal será retirado do procedimento e o quadro de hipoglicemia será revertido a partir da injeção de bólus de glicose 50% pela própria via. Os resultados não serão associados ao nome da propriedade de origem, de forma a manter o sigilo dos dados obtidos.

Os dados obtidos poderão auxiliar a traçar metodologia de manejo de animais que se encontrem obesos e diagnosticados como portadores de SME ou em risco de desenvolvimento

da mesma. Os resultados servirão para diagnóstico de condições ainda não estudadas dentro da raça, podendo trazer à luz um diagnóstico diferencial para casos de laminite sem fator associado prévio que por ventura aconteçam nos animais e distúrbios endocrinometabólicos como o hipotireoidismo.

Para maiores informações sobre a pesquisa, sinta-se à vontade de entrar em contato:

- Pesquisador responsável:
Paulo de Tarso Landgraf Botteon:
paulobotteon@gmail.com
- Colaboradora:
Erica Bertha Fuhrich Raupp Bezerra de Mello
bezerrademello.ebfr@gmail.com (Celular: (11) 99201-2476)
- Comitê de Ética da UFRRJ:
(21) 2681-4707; 2682-1220