

NANCY LORENA MONTAÑO RIVERA

**SUPLEMENTAÇÃO DE ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO NA DIETA
DE BEAGLES EM CRESCIMENTO**

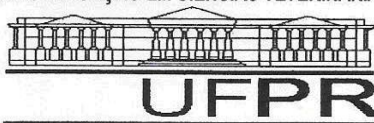
Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias, Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Alex Maiorka

CURITIBA

2006

PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS




PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa de Dissertação da Candidata ao Título de Mestre em Ciências Veterinárias, **NANCY LORENA MONTAÑO RIVERA** Área Produção Animal após a realização desse evento, exarou o seguinte Parecer:

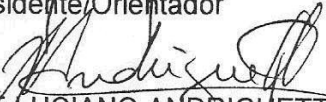
- 1) A Dissertação, intitulada “SUPLEMENTAÇÃO DE ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO NA DIETA DE BEAGLES EM CRESCIMENTO” foi considerada, por todos os Examinadores, como um louvável trabalho, encerrando resultados que representam importante progresso na área de sua pertinência.
- 2) A Candidata apresentou muito bem durante a Defesa de Dissertação, respondendo a todas as questões que foram colocadas.

Assim, a Comissão Examinadora, ante os méritos demonstrados pela Candidata, e de acordo com o Art. 78 da Resolução nº 62/03 – CEPE considerou a candidata APROVADA concluindo que faz jus ao Título de Mestre em Ciências Veterinárias, Área Produção Animal.

Curitiba, 22 de fevereiro de 2006.



Prof. Dr. ALEX MAIORKA
Presidente/Orientador



Prof. Dr. JOSÉ LUCIANO ANDRIGUETTO
Membro



Dr. EVERTON L. KRABBE
Membro

AGRADECIMENTOS

Aos professores da Universidade Federal do Paraná, por continuarem me ensinando, principalmente professora Rosângela Ditrich, professor Marcos Vinícius Ferrarri, professor Rogério Ribas Lange, professor Antonio Felipe Wouk e professor José Francisco Warth. Ao professor Alex Maiorka, por ter aceitado ser meu orientador.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPQ e às empresas, Kowalski, Basf pelo incentivo e ajuda a realização deste experimento.

Às pessoas do laboratório de Patologia Clínica e do laboratório de Nutrição. Ao Sr. Ismael da fábrica de ração da UFPR pela paciência e ajuda.

Às amigas estagiárias, com as quais realmente pude contar, Mariam, Eluiza, Alessandra e Angela. As colegas e amigas de mestrado, Marúcia, Michelli, Constanza, Andréa e Alessandra.

Aos meus pais, que me sustentaram não só financeiramente mas com amor, paciência e carinho, durante esta fase e toda minha vida.

Às minhas meninas, Flora, Panda e Nêne, que apesar dos ciúmes, sabem que continuam sendo minhas prediletas.

Ao meu irmão, amigas e amigos, que mantiveram contato, mesmo eu estando um pouquinho ausente.

E como não poderia esquecer... agradeço...principalmente as senhoritas e senhores: Invocada, Lindinha, Crica, Fofinha, Florzinha, Vampira, Gracinha, Hanna, Mel, Tati, Bob, Belo, Rufião, Tadeu, Romeu e Zé. Com os quais tive uma grande oportunidade, não apenas de realizar o experimento, mas de continuar aprendendo, vendo-os crescer, através da convivência; tendo que estimular minha criatividade e paciência diariamente, para evitar brigas, roubo de chaves, quebra de pratos, cair em buracos,... sendo, com certeza, uma experiência inesquecível!

*Obrigada por tudo,
Nancy Lorena Montaña Rivera*

"Abençoados os que esquecem, porque aproveitam até mesmo seus equívocos".
Friedrich Nietzsche

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA

RESUMO.....1

ABSTRACT2

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1 INTRODUÇÃO.....3

2 REVISÃO DA LITERATURA.....5

2.1 DESCRIÇÃO DA RAÇA.....5

2.2 OBESIDADE EM CÃES.....5

2.3 ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO.....7

2.3.1 Efeito sobre composição corporal.....10

2.3.2 Efeito sobre concentração sérica de colesterol e triglicérides.....13

2.3.3 Efeito sobre o sistema imune.....15

2.3.4 Efeito sobre a glicemia.....18

2.3.5 Outros efeitos.....18

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....20

CAPÍTULO 2 – DIGESTIBILIDADE DOS NUTRIENTES COM INCLUSÃO DE ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO NA DIETA DE CÃES

RESUMO.....26

1 INTRODUÇÃO.....27

2 MATERIAL E MÉTODO.....28

| | |
|---|-----------|
| 2.1 LOCAL DO EXPERIMENTO..... | 28 |
| 2.2 GRUPO EXPERIMENTAL..... | 28 |
| 2.3 DIETAS EXPERIMENTAIS..... | 28 |
| 2.4 ENSAIO DE DIGESTIBILIDADE..... | 30 |
| 2.4.1 Cães com sete meses de idade..... | 31 |
| 2.4.2 Cães com 15 meses de idade..... | 31 |
| 2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA..... | 31 |
| 3 RESULTADOS..... | 32 |
| 4 DISCUSSÃO..... | 33 |
| 5 CONCLUSÕES..... | 34 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 35 |
| ANEXO..... | 37 |

CAPÍTULO 3 – EFEITOS DO ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO SOBRE COMPOSIÇÃO CORPORAL DE CÃES DA RAÇA BEAGLE

| | |
|---|-----------|
| RESUMO..... | 38 |
| 1 INTRODUÇÃO..... | 39 |
| 2 MATERIAL E MÉTODO..... | 40 |
| 2.1 LOCAL E PERÍODO DO EXPERIMENTO..... | 40 |
| 2.1.1 Grupo experimental | 40 |
| 2.1.2 Instalações..... | 40 |
| 2.2 DIETAS EXPERIMENTAIS..... | 41 |
| 2.3 AVALIAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR E ESCORE DE FEZES..... | 41 |
| 2.4 AVALIAÇÃO DA CONDIÇÃO CORPORAL..... | 42 |
| 2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA..... | 42 |
| 3 RESULTADOS..... | 43 |
| 3.1 AVALIAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR E ESCORE FECAL..... | 43 |
| 3.2 AVALIAÇÃO DA CONDIÇÃO CORPORAL..... | 45 |
| 3.2.1 Peso vivo e escore corporal..... | 45 |

| | |
|---|-----------|
| 3.2.2 Altura..... | 46 |
| 3.2.3 Mensuração da circunferência do tórax, abdômen e da coxa..... | 46 |
| 4 DISCUSSÃO..... | 48 |
| 5 CONCLUSÕES..... | 52 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 52 |
| ANEXO..... | 55 |

CAPÍTULO 4 – EFEITO DO ALC SOBRE O PERFIL LIPÍDICO PLASMÁTICO E GLICEMIA EM CÃES

| | |
|---|-----------|
| RESUMO..... | 58 |
| 1 INTRODUÇÃO..... | 59 |
| 2 MATERIAL E MÉTODO..... | 60 |
| 2.1 LOCAL E PERÍODO DO EXPERIMENTO..... | 60 |
| 2.2 GRUPO EXPERIMENTAL..... | 60 |
| 2.3 DIETAS EXPERIMENTAIS..... | 60 |
| 2.4 ANÁLISE LABORATORIAL..... | 61 |
| 2.4.1 Glicemia..... | 62 |
| 2.4.2 Colesterol total e HDL..... | 62 |
| 2.4.3 Triglicérides, VLDL e LDL..... | 62 |
| 2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA..... | 63 |
| 3 RESULTADOS..... | 63 |
| 4 DISCUSSÃO..... | 66 |
| 5 CONCLUSÕES..... | 70 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 71 |

CAPÍTULO 5 – EFEITO DO ALC SOBRE GLICEMIA, ÍNDICE DE PROLIFERAÇÃO DE LINFÓCITOS E LACTATO EM CÃES DA RAÇA BEAGLE

| | |
|--------------------------|-----------|
| RESUMO..... | 73 |
| 1 INTRODUÇÃO..... | 74 |

| | |
|---|----|
| 2 MATERIAL E MÉTODO | 75 |
| 2.1 LOCAL, GRUPO EXPERIMENTAL E PERÍODO DO EXPERIMENTO.. | 75 |
| 2.2 ANÁLISE LABORATORIAL..... | 75 |
| 2.2.1 Índice de proliferação de linfócitos..... | 76 |
| 2.2.2 Concentração de lactato sérico..... | 77 |
| 2.2.3 Concentração sanguínea de glicose, triglicérides, colesterol total, HDL e LDL..... | 78 |
| 2.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA..... | 78 |
| 3 RESULTADOS | 78 |
| 4 DISCUSSÃO | 80 |
| 5 CONCLUSÕES | 84 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 84 |
| | |
| CONSIDERAÇÕES FINAIS | 87 |

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

- FIGURA 1.1 – Estrutura química dos isômeros do ácido linoleico conjugado trans-10, cis-12 e cis-9, trans-11.....10
- FIGURA 1.2 – Esquema para os efeitos do ácido linoleico conjugado trans-10, cis-12 sobre os adipócitos e pré-adipócitos.....13
- FIGURA 1.3 – Três maneiras gerais pelas quais o corpo do animal se defende contra a invasão microbiana.....16

CAPÍTULO 2 – DIGESTIBILIDADE DOS NUTRIENTES COM INCLUSÃO DE ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO NA DIETA DE CÃES

ANEXO

- FIGURA 2.1 – Gaiolas metabólicas usadas no experimento.....37

CAPÍTULO 3 – EFEITOS DO ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO SOBRE COMPOSIÇÃO CORPORAL DE CÃES DA RAÇA BEAGLE

- FIGURA 3.1 – Consumo alimentar mensal por indivíduo do grupo controle e ALC aos 8, 12 e 16 meses de idade.....44

ANEXO

- FIGURA 3.2 – Locais (X, Y) estabelecidos para alimentar os cães.....55
- FIGURA 3.3 – Vista externa das baias usadas para alojar os cães.....56
- FIGURA 3.4 – Vista geral da área em que os cães ficavam soltos.....56
- FIGURA 3.5 – Sistema de avaliação do escore corporal de pequenos animais.....57

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2 – DIGESTIBILIDADE DOS NUTRIENTES COM INCLUSÃO DE ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO NA DIETA DE CÃES

| | |
|--|----|
| TABELA 2.1 – Ingredientes usados na formulação das dietas controle e ALC..... | 29 |
| TABELA 2.2 – Análise laboratorial das dietas fornecidas para o grupo controle e ALC..... | 32 |
| TABELA 2.3 – Coeficientes de digestibilidade e energia metabolizável de dietas fornecidas para cães com sete meses de idade..... | 33 |
| TABELA 2.4 – Coeficientes de digestibilidade e energia metabolizável de dietas fornecidas para cães com 15 meses de idade..... | 33 |

ANEXO

| | |
|---|----|
| TABELA 2.5 – Necessidade energética de cães nas diferentes fases de vida..... | 37 |
|---|----|

CAPÍTULO 3 – EFEITOS DO ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO SOBRE COMPOSIÇÃO CORPORAL DE CÃES DA RAÇA BEAGLE

| | |
|---|----|
| TABELA 3.1 – Consumo mensal em quilogramas por indivíduo aos oito, 12 e 16 meses de idade..... | 44 |
| TABELA 3.2 – Mediana do escore fecal para o grupo controle e ALC aos seis, oito, dez, 12, 14 e 16 meses de idade..... | 45 |
| TABELA 3.3 – Peso vivo dos cães em quilograma aos seis, dez e 16½ meses de idade para os grupos controle e teste..... | 45 |
| TABELA 3.4 – Mediana do escore corporal para os tratamentos controle e ALC durante a fase de crescimento..... | 46 |
| TABELA 3.5 – Altura dos cães dos grupos controle e ALC nas seguintes idades: 12, 13, 14, 15 e 16 meses..... | 46 |

| | |
|---|----|
| TABELA 3.6 – Circunferência torácica dos grupos controle e ALC dos cães da raça Beagle durante a fase de crescimento..... | 47 |
| TABELA 3.7 – Circunferência abdominal dos grupos controle e ALC dos cães da raça Beagle durante a fase de crescimento..... | 47 |
| TABELA 3.8 – Resultados médios \pm desvio padrão da circunferência da coxa dos grupos controle e ALC dos cães da raça Beagle durante a fase de crescimento..... | 47 |

ANEXO

| | |
|--|----|
| TABELA 3.9 – Identificação dos cães pertencentes ao grupo controle e teste através de tatuagens..... | 55 |
| TABELA 3.10 – Sistema de avaliação da consistência das fezes através de escores..... | 55 |

CAPÍTULO 4 – EFEITO DO ALC SOBRE O PERFIL LIPÍDICO PLASMÁTICO

| | |
|---|----|
| TABELA 4.1 – Ingredientes usados na formulação das dietas controle e ALC..... | 61 |
| TABELA 4.2 – Nível de glicose sérica (mg/dl) para os grupos controle e ALC dos cães da raça Beagle durante a fase de crescimento | 64 |
| TABELA 4.3 – Concentração sérica de colesterol total (mg/dl) nos grupos controle e ALC dos cães da raça Beagle durante a fase de crescimento..... | 65 |
| TABELA 4.4 – Concentração sérica de triglicérides (mg/dl) nos grupos controle e ALC dos cães da raça Beagle durante a fase de crescimento..... | 65 |
| TABELA 4.5 – Concentração de HDL (mg/dl) nos grupos controle e ALC dos cães da raça Beagle durante a fase de crescimento..... | 66 |
| TABELA 4.6 – Concentração de LDL (mg/dl) nos grupos controle e ALC dos cães da raça Beagle durante a fase de crescimento..... | 66 |

CAPÍTULO 5 – EFEITO DO ALC SOBRE GLICEMIA, ÍNDICE DE PROLIFERAÇÃO DE LINFÓCITOS E LACTATO EM CÃES DA RAÇA BEAGLE

| | |
|---|----|
| TABELA 5.1 –Índice de proliferação de linfócitos dos cães da raça Beagle com 17 meses de idade..... | 79 |
| TABELA 5.2 – Concentração de lactato sanguíneo (mmol/l) de cães da raça Beagle dos grupos controle e ALC após o exercício..... | 79 |
| TABELA 5.3 – Variações obtidas (depois-antes do exercício) de temperatura, TPC, FR e FC entre os tratamentos controle e ALC..... | 79 |
| TABELA 5.4 – Concentração sanguínea de colesterol total, triglicérides, HDL, LDL e glicose dos tratamentos controle e ALC de cães da raça Beagle aos 17 meses de idade após exercício | 80 |

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

8-iso-PGF_{2α} – 8 – isoprostaglandina – F_{2α}

AG – ácido graxo

AGs – ácidos graxos

Ca – cálcio

CD – cluster differentiation (receptor característico dos linfócitos)

ALC – ácido linoleico conjugado

CRP – proteína-C reativa

EE – extrato etéreo

EM –energia metabolizável

ENN – extrativos não nitrogenados

FB – fibra bruta

FC – frequência cardíaca

FR – frequência respiratória

GLUT – transportador de glicose

HDL – lipoproteína de alta densidade

Ig – imunoglobulinas

IL – interleucina

IMC – índice de massa corporal

LDL – lipoproteína de baixa densidade

MS – matéria seca

NADH - nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzido

NK – célula “natural killer”

P – fósforo

PB – proteína bruta

PDH - piruvato desidrogenase

PPARs – receptores de proliferação de peroxissomos

RM – resíduo mineral

TAG – triglicérides

TNF – α – fator de necrose tumoral

TPC – tempo de preenchimento capilar

UCP – proteína desacopladora

VLDL – lipoproteína de muito baixa densidade



Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

Curitiba, 31 de agosto de 2004.

PARECER N. 17/04/CEPA-PUCPR

Prezado (a) Pesquisador (es)

Venho por meio desta informar a Vossa Senhoria que o Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da PUCRPR, em reunião realizada no dia 30 de agosto do corrente ano avaliou o Projeto Intitulado “Efeito da Suplementação de Ácido Linoleico Conjugado em Cães da Raça Beagle”, sob o registro no CEPA/PUCPR nº23.

O experimento classificado como de categoria C será realizado com o número de 16 Cães Beagle.

O colegiado do CEPA entendeu que o projeto avaliado está de acordo com as normas éticas vigentes no país e por isso emite o seguinte parecer.

APROVADO

Lembramos o senhor (a) pesquisador (a) que é obrigatório encaminhar relatório anual parcial e relatório final da pesquisa a este CEPA.

Atenciosamente,

Prof. Dr. Paulo Henrique Couto Souza

Secretário do Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da PUCPR

Ilmo Sr

Alex Maiorka

Rua Imaculada Conceição, 1155 - Prado Velho - CEP: 80215-901 – Caixa Postal 16.210–CEP 81611-970
Telefone: (41) 271-1521 – Telefax: (41) 271 -1661 - Curitiba – Paraná – Brasil

SUPLEMENTAÇÃO DE ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO (ALC) NA DIETA DE BEAGLES EM CRESCIMENTO

RESUMO – Estudos realizados com animais e humanos têm sugerido que o ALC possui ação anticancerígena, anti-aterogênica, além de estar relacionado a alterações na composição corporal, uma vez que levaria ao aumento da massa muscular e redução do percentual de gordura. Com base nessa informação, este experimento foi realizado utilizando-se 16 cães da raça Beagle, com o objetivo de avaliar os efeitos do ALC quando acrescentado à ração de cães, sobre a digestibilidade do alimento, estado imunológico e desenvolvimento do cão durante a fase de crescimento, dos seis aos 17 meses de idade. Os cães foram divididos aleatoriamente em dois grupos: controle e teste, diferindo apenas quanto à inclusão de ALC (0,3%). Foram realizadas análises zootécnicas a cada duas semanas; hematológicas e bioquímicas a cada seis semanas; ensaio de digestibilidade aos sete e aos 15 meses de idade e; imunológica e concentração de lactato sérico aos 17 meses de idade dos cães. Os coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes e matéria seca não foram afetados pela inclusão do ALC nem aos sete e nem aos 15 meses de idade. A energia metabolizável do alimento suplementado com ALC mostrou-se significativamente superior ao alimento controle em ambos ensaios de digestibilidade ($p < 0,01$). A inclusão de ALC na dieta de cães durante a fase de crescimento não alterou o consumo, peso, qualidade das fezes, escore corporal, altura, circunferência do tórax e abdominal, perfil lipídico sanguíneo, glicemia e índice de proliferação de linfócitos. O grupo teste apresentou maior concentração de lactato sanguíneo quando comparado com o grupo controle ($p < 0,05$).

PALAVRAS-CHAVE: cães, nutrição, energia metabolizável, CLA.

SUPPLEMENTATION OF CONJUGATED LINOLEIC ACID (CLA) IN THE DIET OF GROWING BEAGLES

ABSTRACT – Numerous seemingly beneficial physiological effects have been attributed to CLA including inhibiting chemically induced carcinogenesis, reducing atherosclerosis, enhancing the immune response, enhancing growth, reducing body fat gain in animal models. Thus, this experiment had the objective to evaluate the effect of the CLA when added to dog diet, its effect on the digestibility of the food, immune state and development of the dog during the growth phase. Sixteen Beagle dogs were divided into two treatments (control and test), in completely randomized design. The dogs were fed from six to 17 months old with two diets, differing only on CLA inclusion (0.3%) in test diet. This experiment was approved by the Committee of Ethics in Research with Animals of the PUCPR, under register in the CEPA/PUCPR nº 23. Zoometric analyses were carried out every two weeks; hematology and serum biochemical analysis were made every six weeks. Digestibility trials were carried out with dogs seven and 15-months old; blood lactate concentration and rate of lymphocytes proliferation were carried out on 17-month-old dogs. Apparent digestibility coefficients of the nutrients and dry matter were not affected by the inclusion CLA in the diet, at seven and 15 months of age. The metabolic energy of the diet supplemented with CLA was greater than that in the control group in both digestibility trials ($p < 0,01$). The inclusion of CLA in the diet during the growth phase did not modify the intake, weight, faeces quality, body condition score, height, abdominal and thorax circumference, serum lipid profile, blood glucose and rate of proliferation of lymphocytes. The test group presented greater blood lactate concentration when compared with the control group ($p < 0,05$).

KEY WORDS: dogs, nutrition, metabolic energy, CLA.

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1 INTRODUÇÃO

A alimentação dos animais de companhia tem alguns objetivos próprios que a diferenciam da alimentação de animais de produção, nos quais visa-se otimizar as produções. Os animais de companhia são em muitas ocasiões considerados membros da família e são tratados como tal. Isso implica que sua alimentação, além de conter uma quantidade de nutrientes correta, equilibrada e disponível, deve permitir otimizar sua saúde, atividade e longevidade. Atualmente, o sobrepeso e a obesidade são problemas freqüentes em cães e gatos e existem outras enfermidades que incluem um tratamento nutricional, logo, a alimentação para animais de companhia visa promover uma correta condição corporal, prevenir o aparecimento de determinadas patologias ou acelerar a recuperação dos animais enfermos (MIGUEL, 2000).

As rações para cães e gatos são produzidas de forma a serem completas e balanceadas, mas nem todas se enquadram no conceito de nutrição ótima (CARCIOFI, 2003). De uma maneira simplificada, este se refere ao uso apropriado de alimentos e ingredientes de forma a otimizar a ingestão de nutrientes e a saúde. Benefícios importantes também podem ser fornecidos pelo uso de ingredientes classificados como “nutracêuticos”, ingredientes funcionais e que promovem benefícios indiretos sobre a imunidade e o ambiente intestinal dos animais (CARCIOFI, 2003). Ainda segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a alegação de propriedade funcional é relativa ao papel metabólico ou fisiológico que o nutriente ou não nutriente tem no crescimento, desenvolvimento, maturação e outras funções normais do organismo humano.

Muito tem sido falado sobre alimentos funcionais e seus benefícios para a saúde, de forma a incentivar fortemente o uso de produtos e/ou alimentos que

contenham propriedades com alegação funcional. Entretanto, muitas pesquisas ainda não são conclusivas em muitos pontos, especialmente quanto à ação "protetora" preconizada, quanto às doses indicadas, e quanto as possíveis ações adversas provenientes do uso prolongado desses produtos (MOURÃO *et al.*, 2005).

Entre os alimentos funcionais têm-se os agentes imunomoduladores (ácidos graxos poliinsaturados n-3 e n-6), vitaminas empregadas em concentrações suprafisiológicas (vitamina A, vitamina E, vitamina C), agentes ergogênicos (picolinato de cromo, creatina, culturas de levedura) e agentes condroprotetores (glicosaminoglicanos, sulfato de condroitina e ácido hialurônico). O emprego da nutrição ótima implica em equilibrar a ingestão de nutrientes essenciais, associada ao uso de substâncias que favoreçam a maximização das funções orgânicas, saúde, longevidade e bem-estar. Neste contexto inclui-se um adequado processamento dos alimentos, seleção de matérias primas com alto valor nutritivo e testes em animais comprovando os benefícios preconizados (CARCIOFI, 2005).

Cães e gatos com sobrepeso têm maior chance de ter elevados níveis de triglicérides (TAG) e lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) comparado com animais com peso normal (SUNVOLD e MURRAY, 2003).

Este estudo de mestrado teve como objetivo estudar e avaliar o ácido linoleico conjugado quando acrescentado à ração de cães e seus efeitos na digestibilidade e metabolismo do alimento, estado imunológico, integridade do pelame e desenvolvimento do cão durante a fase de crescimento.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 DESCRIÇÃO DA RAÇA

O Beagle tem como origem provável a Grã-Bretanha, no século XIV; criado provavelmente no período Elisabetano, com cruzamentos entre o Harrier e antigos Sabujos ingleses. A criação foi mais incentivada na Inglaterra do que em outros países. Depois, com a colonização dos Estados Unidos, alguns exemplares foram levados para lá, iniciando a criação na América. Entre o Beagle inglês e o norte-americano, a única diferença é o tamanho. O norte-americano mede entre 33 a 38 cm e o inglês mede 40 cm. Sendo menores antigamente, muitas vezes eram carregados em alforjes ou bolsas de couro; provavelmente, seu nome deriva do francês "bagueule", palavra que se refere aos ruídos feitos por um pacote (PAGOTTO, 2005).

A função original desta raça era de auxiliar na caça de coelhos e lebres, sendo selecionado para viver e caçar em matilhas. Segundo a principal entidade cinófila do País, a Confederação Brasileira de Cinofilia, o Beagle passou de 13ª raça com maior quantidade de filhotes registrados no ano de 1995 para a 11ª em 1998 (CARVALHO, 2005).

2.2 OBESIDADE EM CÃES

A obesidade é o problema nutricional mais importante na clínica de pequenos animais e apresenta tendência a um aumento progressivo, relacionado ao crescimento da população de animais de estimação em todo o mundo. Os animais de estimação dos grandes centros urbanos estão cada vez mais concentrados em pequenos espaços (apartamentos) e com vida sedentária, e a

conjunção de três fatores; castração, disponibilidade alta de alimentos e manejo inadequado do proprietário, aumenta, em muito, o aparecimento da enfermidade (LAFLAMME *et al.*, 1998; BORGES, 2004).

Os maiores depósitos de gordura acumulada localizam-se sob a pele, como gordura subcutânea, ao redor dos órgãos vitais e nas membranas que rodeiam os intestinos. Alguns destes depósitos podem ser observados com facilidade nos cães e gatos obesos (CASE *et al.*, 1998).

Para cães e gatos, uma condição corporal ideal é quando a quantidade de gordura é aproximadamente 15% do peso corporal, isto geralmente ocorre quando o animal atinge a maturidade, com cerca de um ano de idade (SHARON, 2003).

A composição corporal pode ser determinada por meio de diferentes técnicas com diferentes graus de precisão e exatidão e a custos variados. Existem métodos altamente sofisticados, porém caros, como absorciometria de raios-x de dupla energia, tomografia computadorizada, ressonância magnética e análise por ativação de nêutrons (BORGES, 2005). Conseqüentemente, estimativas subjetivas são realizadas para obter o índice de massa corporal (IMC), com base no escore corporal ou mensurações anatômicas. O IMC% pode ser calculado dividindo o peso atual pelo peso ideal multiplicando o resultado por 100, o animal estará acima do peso se o resultado for maior que 120% (SHARON, 2003).

O escore corporal determina uma mensuração subjetiva da quantidade de gordura corporal do animal, considerando o tamanho do esqueleto e avaliação física do depósito de gordura subcutânea nas regiões do corpo. Os sistemas usados possuem cinco ou nove escores na escala e comparam as silhuetas físicas. Esse método torna-se mais refinado com a experiência e quando as avaliações são feitas por um número limitado de examinadores (SHARON, 2003).

A estimativa total de gordura corporal também pode ser realizada fazendo mensurações de algumas regiões do corpo. A região que reflete maior consistência da gordura corporal total é a circunferência abdominal. Em adição a

circunferência abdominal, uma a três outras mensurações são necessárias para estimar a composição corporal (SHARON, 2003).

A mensuração da circunferência pélvica, por exemplo, deve ser feita pelo mesmo examinador usando uma fita métrica, com o comprimento gravado em centímetros, duas a três vezes. Mesmo sendo o mesmo examinador usando a mesma técnica, o valor da mensuração pode variar ao longo do dia, devido à retenção de conteúdos entérico e urinário (SHARON, 2003).

A avaliação das dimensões corporais em vários sítios baseia-se no princípio de que a dimensão básica de um corpo está associada ao montante de tecido magro e que qualquer aumento de medida pode ser explicado pela adição de gordura. Em cães e gatos essas avaliações tornam-se complicadas pela dificuldade em conter e imobilizar os animais, mormente dificultando localizar os sítios anatômicos e mensurá-los com precisão. Alia-se a esse aspecto o fato de poucos estudos terem sido feitos em cães e em gatos. O índice de massa corporal (IMC) é comumente utilizado em humanos como guia para identificar anormalidades de peso em relação à altura. Abordagem semelhante tem sido utilizada em cães e gatos, porém há necessidade de mais pesquisas com diferentes raças, em diferentes faixas etárias e pesos diversos (BORGES, 2005).

2.3 ACIDO LINOLEICO CONJUGADO

O ácido linoleico é o único ácido graxo (AG) considerado essencial na dieta dos cães (CASE *et al.*, 1998).

A deficiência de ácidos graxos (AGs) essenciais pode gerar retardo no crescimento, infertilidade e descoloração dos pêlos. Descamação, eritemas, hematomas, edema cutâneo e otite também são causados pela deficiência de AGs. Em alguns casos surgem ainda aumento da oleosidade, seborréia e exudação - perda de água pela pele (CASE *et al.*, 1998; CARCIOFI, 2002).

A estrutura das duplas ligações nos AGs naturais obedece a um padrão muito característico. Em AG diinsaturado, as duplas ligações estão sempre separadas por pelo menos um carbono intermediário, o qual não participa da estrutura de insaturação. Isto é, um AG onde as duplas ligações estão entre os carbonos 9-10 e 12-13, o carbono 11 não participa da insaturação. Esta seria uma estrutura não conjugada, sendo o caso da maioria dos AGs em sua forma natural (SANHUEZA *et al.*, 2002).

Entretanto, como consequência da manipulação tecnológica ou por efeito de metabolização a nível celular de certos AGs, é possível que uma dupla ligação troque de lugar, seguindo o exemplo anterior, da posição 9-10 para a 10-11, ou da posição 12-13 para a 11-12. Em ambos os casos o carbono intermediário desapareceria e, o AG se transformaria em uma estrutura “conjugada”, ou seja um AG conjugado. A conjugação das duplas ligações pode também ocasionar uma alteração na isomeria espacial do AG. Isto é, um AG diinsaturado, cujas ambas duplas ligações tem isomeria *cis*, uma dessas ligações, ou ambas, podem adotar a isomeria *trans*. Existindo AGs conjugados diinsaturados com isomeria *cis,cis*; *cis,trans*; *trans,cis* ou *trans,trans* (SANHUEZA *et al.*, 2002).

A isomeria geométrica dos AGs é importante em termos nutricionais. A grande maioria dos AGs que se encontram naturalmente possui isomeria *cis*; enquanto que os AGs com isomeria *trans* provem essencialmente de manipulação tecnológica dos óleos (SANHUEZA *et al.*, 2002).

O ácido linoleico conjugado (ALC) é um termo que descreve os isômeros de posição e geométricos do ácido linoleico (18:2, *cis*-9, *cis*-12), um AG dienóico, pertencente ao grupo n-6 (SANHUEZA *et al.*, 2002; ANGEL, 2004; WANG e JONES, 2004).

Pesquisas sobre as funções e benefícios do ALC iniciaram por volta de 1980 com a observação de que o ALC isolado de carne bovina grelhada, ou de isomerização catalisada do ácido linoleico, inibiam quimicamente a indução de uma neoplasia de pele em camundongo. Essa descoberta estimulou outros estudos para avaliar os efeitos benéficos do ALC sobre: câncer, função imune,

arteriosclerose, ganho de peso, ingestão energética e de alimento, bem como, composição corporal (WANG e JONES, 2004).

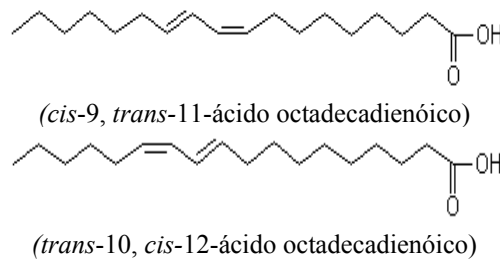
O ácido linoleico pode ser encontrado em abundância nos óleos de milho, girassol, soja, dentre outros vegetais (VISENTAINER *et al.*, 2003; SANHUEZA *et al.*, 2002). As mais comuns fontes de ALC são: leite de ruminantes, produtos lácteos, carne bovina, carne de carneiro e carne de suíno; sendo que mais de 80% do ALC está na configuração *cis-9*; *trans-11* (ANGEL, 2004; SANHUEZA *et al.*, 2002; SANTOS *et al.*, 2001). A composição lipídica da dieta pode influenciar o perfil dos AGs dos tecidos (SABARENSE e MANCINI, 2003).

Segundo PARIZA (2004) o ALC tem sido relatado como tendo propriedades de melhorar uma variedade de doenças, em vários modelos animais. O ALC pode prevenir ou reduzir a obesidade, melhorar a resistência insulínica, inibir a deposição de gordura, inibir o desenvolvimento de neoplasias e modular respostas inflamatórias.

Um isômero de ALC, normalmente o mais abundante, foi identificado como tendo um potente efeito anticarcinogênico e de modulação do sistema imune, o *cis-9*, *trans-11*, já comprovado em vários modelos animais. Outro isômero em destaque, um agente de composição corporal muito efetivo é o *trans-10*, *cis-12*. Portanto são duas moléculas com pequenas diferenças de posição e geometria de ligação (FIGURA 1.1), mas com ações distintas e intensas no metabolismo animal, mesmo em quantidades reduzidas na dieta (0,1 a 1% da matéria seca da dieta) (MEDEIROS, 2003).

É importante ressaltar ainda que alguns efeitos indesejáveis relacionados ao uso do ALC foram encontrados tanto em estudos com humanos quanto em animais, como aumento da resistência à insulina, aumento da glicose e insulina de jejum; elevação da peroxidação lipídica, redução da lipoproteína de alta densidade (HDL) em indivíduos com síndrome metabólica (dislipidemia, hipertensão) tratados com o isômero *trans-10*, *cis-12* (MOURÃO *et al.*, 2005).

Figura 1.1 -Estrutura química dos isômeros do ácido linoleico conjugado *trans*-10, *cis*-12 e *cis*-9, *trans*-11.



FONTE: adaptado de RODRIGUES, E.; 2003.

2.3.1 Efeito sobre composição corporal

O tecido adiposo é um órgão dinâmico que secreta vários fatores denominados adipocinas. Estas adipocinas, em sua grande maioria, estão relacionadas, direta ou indiretamente, a processos que contribuem na aterosclerose, hipertensão arterial, resistência insulínica e diabetes tipo 2, dislipidemias, ou seja, representam o elo entre adiposidade, síndrome metabólica e doenças cardiovasculares. Os adipócitos, além de importante função como reservatório energético corporal, secretam inúmeros compostos protéicos e não protéicos que agem sobre os próprios adipócitos e outros tecidos do organismo. Desta forma, estes fatores modulam o comportamento funcional do tecido adiposo e outros, ao mesmo tempo em que cria mecanismos de *feedback* entre eles. O fator de necrose tumoral (TNF- α) é uma citocina que age diretamente no adipócito, promovendo indução de apoptose, inibição da lipogênese, via inibição da expressão da lipase lipoprotéica, do transportador de glicose (GLUT-4) e da acetil-CoA sintetase, bem como aumento da lipólise, cumprindo, portanto, importante papel regulador no acúmulo de gordura no tecido adiposo (HERMSDORFF e MONTEIRO, 2004).

Segundo WANG e JONES (2004), as pesquisas tem mostrado que o ALC, especificamente o isômero *trans*-10, *cis*-12, pode reduzir a deposição de gordura no tecido adiposo e quantidade de lipídio no corpo, mas parece induzir resistência insulínica, fígado e baço gorduroso em vários animais.

Estudos realizados com pessoas que apresentavam sobrepeso demonstraram que a ingestão diária de 3,4g de ALC produziu uma diminuição de tecido adiposo total sem afetar outros parâmetros metabólicos, como o número de eritrócitos e quantidade de massa magra (BLANKSON *et al.*, 2000).

Em outro estudo, camundongos AKR/J (com forte suscetibilidade à obesidade) foram alimentados com dieta rica em lipídios com ou sem ALC a 1% (com predominância dos isômeros *cis*-9, *trans*-11 e *trans*-10, *cis*-12), por cinco semanas. Verificou-se uma redução de 50% no peso do tecido adiposo dos animais alimentados com ALC, quando comparados aos controles. Entretanto, o peso corporal final foi semelhante, sugerindo tanto aumento da massa magra, quanto redução do tecido adiposo nos animais suplementados com ALC (WEST *et al.*, 2000).

Segundo DUGAN *et al.* (2004), fazendo um levantamento bibliográfico, observou que de 12 artigos sobre quantidade de gordura na carcaça de suínos e uso do ALC, 11 apresentaram redução de gordura na carcaça e de 10 artigos que relataram quantidade de carne magra na carcaça de suínos e uso do ALC, nove mostraram aumento de massa magra.

Existem alguns indícios de que indivíduos, que obtiveram ganho de peso recente, sejam mais suscetíveis aos efeitos do ALC; assim como homens obesos em relação a mulheres obesas. Contudo, essas suposições ainda são inconsistentes devido à grande variabilidade nos delineamentos experimentais, especialmente quanto à dose, ao tipo de isômero(s) usado(s), e ao tempo de intervenção (MOURÃO *et al.*, 2005).

Usando ratos com seis semanas de idade, alimentando-os com uma dieta contendo 5% de óleo de milho e 0,5% de ALC, verificou-se após quatro semanas uma redução de 60% do tecido adiposo. Os autores também descreveram que o ALC produziu diminuição dos níveis de leptina e, uma estimulação da atividade da enzima carnitina palmitoil-transferase (RAHMAN *et al.*, 2001).

Os efeitos do ALC, *in vitro*, de aumentar a lipólise e reduzir a atividade da lipase lipoprotéica, foram posteriormente confirmados também em

camundongos, estando em concordância com o aumento no gasto energético e oxidação de lipídios em animais. Essa ainda é a teoria predominante quanto aos possíveis mecanismos de ação do ALC sobre a composição corporal (MOURÃO *et al.*, 2005).

Dentre as várias possibilidades de mecanismos de ação do ALC, PARK *et al.* (1997) verificaram um aumento na atividade da lipase hormônio-sensível, e conseqüentemente da lipólise em adipócitos, acompanhado por uma maior oxidação de AGs tanto no músculo esquelético quanto no tecido adiposo e pelo aumento também da atividade da carnitina palmitoil-transferase.

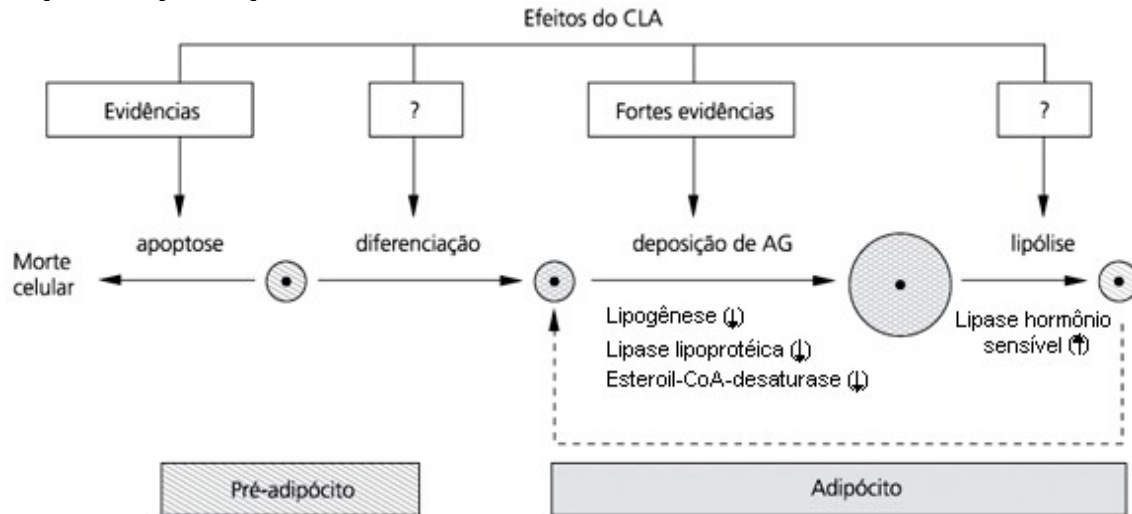
TSUBOYAMA-KASAOKA *et al.* (2000) demonstraram que houve diminuição do tecido adiposo branco, usando camundongos alimentados com uma dieta suplementada por uma mistura de isômeros de ALC; também mostraram que o ALC induziu apoptose do tecido adiposo, um efeito que foi atribuído pelo aumento de secreção do TNF α .

Atualmente alguns estudos sugerem que o ALC tenha um efeito lipolítico por atuar sobre a atividade da lipase lipoprotéica periférica, esteroil-CoA desaturase, (FIGURA 1.2) acil CoA oxidase, leptina e ativar os receptores da proliferação de peroxissomos (PPARs) (KHOSLA e FUNGWE, 2001; KAMPHUIS *et al.*, 2003).

Adicionalmente, algumas evidências mostraram que vários isômeros do ALC têm afinidade de ligação aos PPARs, fatores de transcrição que controlam a beta-oxidação, as vias de transporte dos AGs, e diferenciação de adipócitos (KAWADA, 1998).

Entretanto, postula-se que o decréscimo no tecido adiposo de animais tratados com ALC seja devido à redução no tamanho das células. De qualquer forma, já se sabe que dentre os diferentes isômeros do ALC, o *trans*-10, *cis*-12 é o que tem maior influência sobre as mudanças na composição corporal em animais (MOURÃO *et al.*, 2005).

Figura 1.2 - Esquema para os efeitos do ácido linoleico conjugado *trans*-10, *cis*-12 sobre os adipócitos e pré-adipócitos.



FONTE: adaptado de PARIZA *et al.*, 2001.

2.3.2 Efeito sobre concentração sérica de colesterol e TAG

O colesterol é utilizado pelo organismo para formar os sais biliares necessários para correta absorção e digestão dos lipídeos e também é um precursor dos hormônios esteróides. Os TAG são o tipo de gordura mais importante na dieta e podem ser diferenciados nos alimentos dependendo do tipo de AGs contidos em cada triglicéride (CASE *et al.*, 1998).

RISÉRUS *et al.* (2004) descreveram que o isômero *trans*-10, *cis*-12 causou uma evidente diminuição do perfil metabólico em homens obesos, apresentando uma diminuição significativa da concentração sérica de HDL, com uma concomitante tendência de aumento da concentração sérica de VLDL.

Entretanto, em estudo posterior com coelhos foi descrito que o ALC aumentou os níveis de colesterol e de TAG no plasma (KRITCHEVSKY *et al.*, 2000). Porém em outro estudo com coelhos não foi demonstrada qualquer alteração no perfil lipídico plasmático quando testado o ALC (KRITCHEVSKY *et al.*, 2002).

Em outro estudo com hamsters, o nível de TAG aumentou e de colesterol diminuiu (WILSON *et al.*, 2000).

NICOLOSI *et al.* (1997) demonstraram que o ALC reduziu de modo significativo a concentração plasmática de VLDL e colesterol total em hamsters com hipercolesterolemia.

Testando dietas hiperlipídicas em hamsters, seis animais por grupo foram alimentados com dietas suplementadas com 1% de ácido linoleico ou isômero *cis-9,trans-11* ou *trans-10,cis-12* por dez semanas. Não houve diferença significativa no consumo alimentar e peso corporal final dos animais nos três grupos. No entanto, animais que receberam dietas com *trans-10, cis-12* apresentaram maior concentração plasmática de TAG e HDL quando comparados com os animais que receberam ácido linoleico (MITCHELL *et al.*, 2005).

Na corrente sanguínea o VLDL é catabolizado em LDL. O mecanismo ou mecanismos pelo qual o ALC pode afetar a secreção de VLDL não é conhecido, mas há indícios oriundos de experimentos com cultura celular, que o ALC poderia afetar a assimilação e secreção de VLDL hepático (McLEOD *et al.*, 2004).

Em experimento *in vitro* com isômero *trans-10, cis-12* usando cultura celular de hepatócitos do tipo G2 foi observada redução significativa de secreção da apolipoproteína B. Sendo a apolipoproteína B um componente integral dos TAG e VLDL, isso poderia sugerir que o isômero *trans-10, cis-12* pode reduzir concentrações no plasma de TAG e VLDL (ROCHE *et al.*, 2001).

Outros estudos *in vitro* também mostram que o ALC pode inibir a síntese de AGs pela diminuição da expressão do RNAm para a enzima esteroil-CoA desaturase no hepatócito, havendo a inibição da expressão (ou da atividade) da esteroil-CoA desaturase hepática. O fígado, sendo o órgão chave para a síntese de TAG, pode ter grande importância no metabolismo de AGs e TAG. Isso poderia explicar o achado em experimentos com o isômero *trans-10, cis-12* quando há redução da secreção de TAG pelos hepatócitos do tipo G2 (ROCHE *et al.*, 2001; PARIZA *et al.*, 2001).

Os mecanismos bioquímicos, celulares e moleculares envolvidos no desenvolvimento de fígado e baço gorduroso não estão bem estabelecidos. Há sugestões de que o fígado gorduroso poderia ser conseqüência do aumento de lipogênese no fígado em compensação da redução de deposição de gordura no tecido adiposo (BOELSTERLI e BEDOUCCHA, 2002).

Segundo PARIZA *et al.* (2001) não há substanciais argumentos para as diferentes espécies com respeito ao ALC induzir acúmulo de gordura no fígado. Camundongos alimentados com dietas suplementadas com ALC tiveram aumento de fígado aparentemente devido ao acúmulo de lipídeos, enquanto que hamsters alimentados com dietas suplementadas com ALC desenvolveram hipertrofia de fígado (aumento dos hepatócitos) o que não foi devido ao acúmulo de lipídeos. Ao contrário, ratos e suínos alimentados com dietas contendo ALC não apresentaram evidência de acúmulo de lipídeos nem aumento de peso do fígado. É importante compreender esse efeito para determinar a base molecular para essas diferentes nas respostas fisiológicas.

2.3.3 Efeito sobre o sistema imune

Os linfócitos são agranulócitos, células indiferenciadas entre si pela microscopia óptica, podem ser diferenciadas pelas técnicas imunocitoquímicas que detectam o CD (cluster differentiation). Os linfócitos são divididos em linfócitos T, linfócitos B e linfócitos exterminadores naturais (FIGURA 1.3); sendo o linfócito T responsável principalmente pelo auxílio ao sistema imune e resposta imune celular, o linfócito B responsável pela resposta imune humoral e os linfócitos exterminadores naturais pela resposta imune inespecífica (MOTTA Jr, 2005).

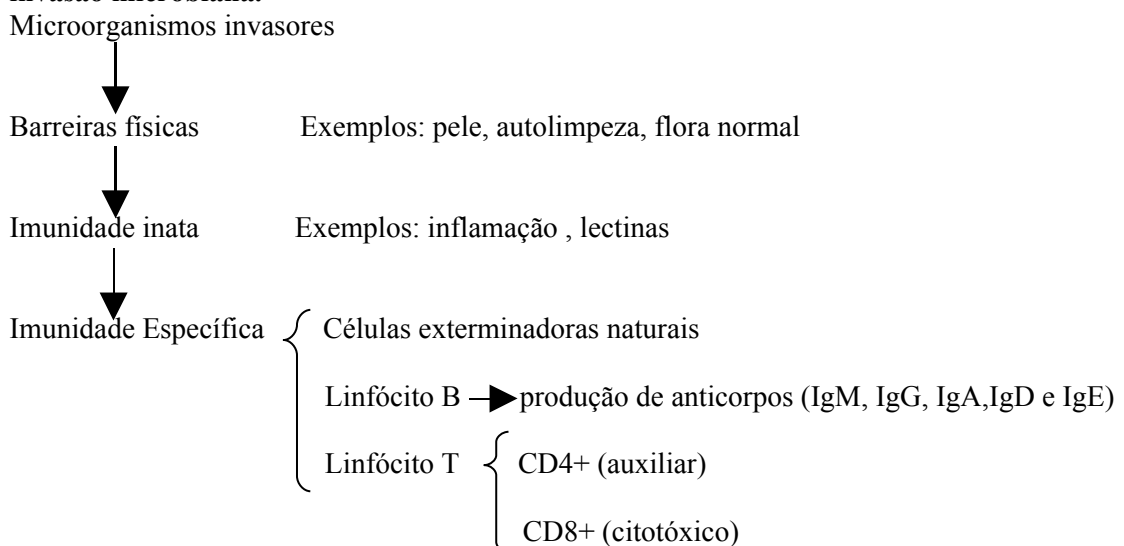
Funcionalmente os linfócitos T são separados em auxiliares (helper), citotóxicos e supressor. Cada um deles possui receptores característicos. O linfócito auxiliar possui receptor CD4⁺ na superfície, que tem a função de reconhecer os macrófagos ativados. A função do linfócito T auxiliar é reguladora. As funções principais do linfócito T auxiliar são estimular o

crescimento e proliferação de linfócitos T citotóxicos e supressores contra o antígeno; estimular o crescimento e diferenciação dos Linfócitos B em plasmócitos para produzir anticorpos contra o antígeno e ativar os macrófagos e auto-estimulação (MOTTA Jr, 2005).

O Linfócito T citotóxico possui receptores CD8+, que tem a função de reconhecer as moléculas do complexo de histocompatibilidade maior (MHC) da classe-I expressa na superfície da maioria das células nucleadas. Os linfócitos T supressores são linfócitos que tem a função de modular a resposta imune através da inibição da mesma. Ainda não se conhece muito a respeito desta célula, mas sabe-se que ele age através da inativação dos linfócitos T citotóxicos e auxiliares, limitando a ação deles no organismo numa reação imune (MOTTA Jr, 2005).

Além das suas proteínas de superfície, os linfócitos podem ser caracterizados pelos estímulos que os fazem dividir. Os mais importantes desses estímulos são as proteínas chamadas de lectinas, que se conjugam com as glicoproteínas da superfície celular. Exemplos de lectinas incluem a fitoemaglutinina e concanavalina A (TIZARD, 2002).

Figura 1.3 – Três maneiras gerais pelas quais o corpo do animal se defende contra a invasão microbiana.



FONTE: adaptado de TIZARD, I. R., 2002.

Os efeitos do ALC sobre o sistema imune constituem conhecimentos que se referem principalmente ao estímulo que exerce na síntese de imunoglobulinas (Ig), como IgA, IgG, IgM e diminuição significativa dos níveis de IgE, pelo qual se presume que o AG poderia ter efeitos favoráveis na prevenção e/ou tratamento de certas alergias alimentares (SUGANO *et al.*, 1998).

Estudos têm demonstrado, em uma relação dose dependente, que o aumento de ALC aumenta o nível de linfócitos no baço de ratos e a secreção de IgG e IgM por parte dessas células (HAYEK, M. G *et al.*, 1999).

Em uma revisão, O'SHEA *et al.* (2004) descreveram que foi observada a redução da concentração de IgE depois da alimentação com ALC e que essa diminuição de IgE foi acompanhada por um aumento em IgM, IgA e IgG.

A diminuição da produção de citocinas pró-inflamatórias como FNT- α em modelos humanos e animais pelo ALC, sugere que o efeito imune do ALC é devido a um perfil anti-inflamatório. O FNT- α tem uma ação central na resposta inflamatória e é um mediador chave em muitas imunopatologias crônicas, incluindo caquexia, aterosclerose, câncer, obesidade e reumatismo (O'SHEA *et al.*, 2004).

Segundo PARIZA *et al.* (2000), o ALC poderia modular o efeito do FNT- α por alterar a ação dos eicosanóides, logo, alterar uma série de atividades biológicas, como a síntese de citocinas e funções imunes, incluindo a apresentação de antígenos. Uma hipótese alternativa ou complementar é que o ALC interage com os PPARs. Os PPARs (α , δ/β e γ) são receptores de AGs que regulam a expressão de genes envolvidos na função imune e de homeostase energética.

PPARs são expressos em muitos tecidos; estudos recentes sugerem que os PPARs estão envolvidos no metabolismo lipídico e de AGs, principalmente no músculo esquelético. Os AGs como o linolênico, linoleico e araquidônico tendem a ligar-se principalmente ao PPAR α (CLAUSELL e TAVARES, 2004).

2.3.4 Efeito sobre a glicemia

O possível efeito dos isômeros de ALC sobre a insulina sangüínea é confuso ainda, pois a resposta insulínica varia entre as espécies estudadas (PARIZA *et al.*, 2001).

Tem se sugerido que o isômero *trans*-10, *cis*-12 é o isômero ativo para o efeito antiobesidade e tem propriedades de alterar a sensibilidade dos receptores da insulina (RISÉRUS *et al.*, 2004; WANG e JONES, 2004).

Em uma revisão, WANG e JONES (2004) descrevem que uma correlação inversa foi observada entre a concentração plasmática do isômero *trans*-10, *cis*-12 e de leptina. A leptina é um importante hormônio envolvido na manutenção da concentração de glicose sérica, por ter uma relação diretamente proporcional aos níveis de insulina. Essa seria a razão considerada para explicar porque reduções dos níveis plasmáticos de leptina induzida pelo ALC afetariam a sensibilidade insulínica.

A resistência insulínica é definida como a perda parcial ou completa da capacidade dos tecidos responderem à insulina. A obesidade é uma condição que favorece o desenvolvimento de resistência insulínica. Tem-se dito que a resistência insulínica ocorre no obeso como um mecanismo de defesa frente ao ganho de peso, pois, nesse estado é produzida uma incapacidade do organismo de captar e oxidar normalmente a glicose promovendo a oxidação de lipídios (MORALES *et al.*, 2003).

Outro mecanismo de ação possível do ALC seria a partir dos efeitos sobre o tecido adiposo e músculo esquelético, no qual o PPAR é capaz de regular a ação da insulina (CLAUSELL e TAVARES, 2004).

2.3.5 Outros efeitos

O ALC está usualmente entre os compostos anticarcinogênicos que atuam reduzindo tanto a incidência de tumor em modelos experimentais de carcinogênese em ratos, como agentes citotóxicos existentes nas células cancerígenas. Esses resultados foram também demonstrados em estudos *in vitro*

de células cancerígenas de melanoma, carcinoma de cólon, carcinoma de próstata, leucemia, carcinoma de ovário e tumor mamário. Vários estudos sugerem que o ALC pode atuar por mecanismos antioxidantes, inibição da síntese de nucleotídeo, redução da atividade proliferativa, inibição da formação de DNA tumoral e inibição da ativação da carcinogênese (SANTOS *et al.*, 2001).

Em humanos, a ação do ALC sobre câncer de mama parece ser mais significativa. O ALC é mais eficiente em seu efeito de prevenção deste tipo de câncer que o ácido oleico, linoleico, eicosapentaenóico e docosahexaenóico. O efeito parece ser dose dependente. Foi demonstrado que o ALC exerce efeitos citotóxicos em cultivos de células de melanoma colón-retal e de câncer mamário (SANHUEZA *et al.*, 2002).

Segundo BASU *et al* (2000)¹, citado por RISÉRUS *et al.* (2004), o ALC é facilmente oxidado, por isso, sugere-se que o aumento da oxidação lipídica pode contribuir com efeitos anticarcinogênicos. O ALC induz aumentos significativos da excreção urinária de 8-iso-prostaglandina-F_{2α} (8-iso-PGF_{2α}), um importante isoprostano, e 15-cetodihidro-prostaglandina-F_{2α}, um importante metabólito da PGF_{2α}, como indicadores do estímulo enzimático e não enzimático da peroxidação lipídica em humanos. Também observaram que o ALC não alterou as concentrações plasmáticas de malonaldeído e, as concentrações de α e γ-tocoferol não diminuíram.

RISÉRUS *et al.* (2004), observaram em humanos, que o grupo tratado com ALC (*trans*-10, *cis*-12) apresentou uma significativa diminuição de proteína C-reativa (CRP) quando comparado com o uso de placebo. Essas mudanças de CRP foram associadas com as alterações de 8-iso-PGF_{2α}.

A informação sobre o efeito antioxidante atribuído ao ALC é a menos clara e mais controversa dos efeitos biológicos já descritos. Estudos realizados *in vitro* têm demonstrado que o ALC possui uma efetiva capacidade de captar radicais livres pelo qual se atribui uma atividade antioxidante. O ALC é

¹ BASU, S.; SMEDMAN, A.; VESSBY, B. Conjugated linoleic acid induces lipid peroxidation in humans. FEBS Lett, v. 468, p. 33–36, 2000.

considerado como um efetivo inibidor do estresse oxidativo quando comparado com tocoferóis e antioxidantes sintéticos, como o butilhidroxitolueno. Numerosos trabalhos mencionam sua atividade antioxidante comparável a dos antioxidantes sintéticos convencionais (SANHUEZA *et al.*, 2002).

Em estudo com hamsters alimentados com dietas contendo 0,06% a 1,1% de ALC e 1,1% de ácido linoleico, a relação tocoferol plasmático/ colesterol total aumentou até 86% e, em forma proporcional à adição de ALC. Esta informação sugere que o ALC teria um efeito de poupar a capacidade antioxidante do plasma, atividade que poderia de alguma maneira ser relacionada com efeitos antiaterogênicos (NICOLOSI, R. J. *et al.*, 1997).

Segundo O'SHEA *et al.* (2004), a adição de ALC em dietas parece afetar de modo diferente os mecanismos imunes envolvidos em reações alérgicas e infecciosas. O ALC reduz a secreção de prostaglandinas-E2 e interleucina-12 pelos monócitos ou macrófagos. Também foi observada uma diminuição na produção de leucotrienos e prostaglandinas em animais alimentados com ALC.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANGEL, A. Preface. **American Journal Clinical Nutrition**, v.79S, p. 1131S, 2004.

ANVISA Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>> Acesso em: 2 nov. 2005.

BLANKSON, H.; STAKKESTAD, J. A.; ERLING, H. F.; WADSTEIN, T. .J.; GUDMUNDSEN, O. Conjugated linoleic acid reduces body fat mass in overweigh and obese humans. **Journal Nutrition**, v. 130, p. 2943-2948, 2000.

BOELSTERLI, U. A.; BEDOUCCHA, M. Toxicological consequences of altered peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma) expression in the liver: insights from models of obesity and type 2 diabetes. **Biochemistry Pharmacology**, v. 63, p. 1-10, 2002.

BORGES, F. M. O. Programas de redução de peso para cães e gatos. *In: IV Simpósio sobre nutrição de animais de estimação*, Campinas : CBNA, p.1-48, 2004.

BORGES, N. C. Técnicas para a determinação da composição corporal de cães e gatos. *In: I Simpósio de nutrição clínica de cães e gatos*, São Paulo: UNESP-Jaboticabal, 2005. CD

CAMPBELL, K. L. Therapeutic indications for dietary lipids. *In: BONAGURA, J.D. Kirk's Current Veterinary Therapy XI: small animal practice*. Philadelphia : W.B. Saunders, 1992. p. 36-39.

CARCIOFI, A. C. Nutrição ótima para cães e gatos. *Clínica Veterinária*, v.47, p.72-78, 2003.

CARCIOFI, A. C. Reflexões sobre a qualidade de uma ração para cães e gatos. *In: Anais do I Simpósio de produção, nutrição e alimentação de cães e gatos*. Londrina : UEL, 2005. CD

CARCIOFI, A. C.; BAZOLLI, R. S.; PRADA, F. Ácidos graxos poliinsaturados 6 e 3 na alimentação de cães e gatos. *Revista de Educação Continuada do CRMV-SP*, v. 5, n. 3, p. 268-277, 2002.

CARVALHO, M. R. Beagle. Disponível em: <<http://www.saudeanimal.com.br/beagle.htm>> Acesso em: 29 jun. 2005.

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

CLAUSELL, N.; TAVARES, A. M. V. O papel dos PPARs nas Doenças Cardiovasculares - Aspectos patogênicos na aterosclerose e insuficiência cardíaca e suas implicações clínicas. *Revista da Sociedade de Cardiologia do Rio Grande do Sul*, v. 13, n. 03, p.1-4, 2004.

DUGAN, M. E. R.; AALHUS, J. L.; KRAMER, J. K. G. Conjugated linoleic acid pork research. *American Journal Clinical Nutrition*, v. 79S, p. 1212S-1216S, 2004.

HAYEK, M. G.; HAN, S. N.; WU, D.; WATKINS, B. A.; MEYDANI, M.; DORSEY, J. L.; SMITH, D. E.; MEYDANI, S. N. Dietary conjugated linoleic acid influences the immune response of young and old C57BL/6N CrlBr mice. *Journal Nutrition*, v. 129, p. 32-38, 1999.

HERMSDORFF, H. H. M.; MONTEIRO, J. B. R. Visceral, subcutaneous or intramuscular fat: where is the problem? **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia & Metabologia**, v.48, n.6, p.803-811, 2004.

KAMPHUIS, M. M. J. W.; LEGEUNE, M. P. G. M.; SARIS, W. H. M.; WESTERTERPPLANTENGA, M.S. The effect of conjugated linoleic acid supplementation after weight loss on body weight regain, body composition, and resting metabolic rate in overweight subjects. **International Journal of Obesity**, v.27, p.840-847, 2003.

KAWADA T. Lipid metabolism related nuclear receptor: the structure, function, expression and classification of peroxisome proliferation-activated receptor (PPAR). **Nippon Rinsho**, v. 56, n.7, p.1722-1728, 1998.

KHOSLA, P.; FUNGWE, T.V. Conjugated linoleic acid: effects on plasma lipids and cardiovascular function. **Current Opinion Lipidology**, v.12, p.31-34, 2001.

KRITCHEVSKY, D.; TEPPER, S. A.; WRIGHT, S.; CZAMECKI, S. K. Influence of graded levels of conjugated linoleic acid (CLA) on experimental atherosclerosis in rabbits. **Nutrition Research Review**, v.22, p.1275-1279, 2002.

LAFLAMME, D.P.; HUME, E.; HARRISON, J. Evaluation of zoometric measures as an assessment of body composition of dogs and cats. **Ralston Purina Co**, St Louis: Nestlé-Purina, 1998.

MCCLEOD, R. S.; LEBLANC, A. M.; LANGILLE, M. A.; MITCHELL, P. L.; CURRIE, D. L. Conjugated linoleic acids, atherosclerosis, and hepatic very-low-density lipoprotein metabolism **American Journal Clinical Nutrition**, v. 19, n. 6, p.1169S-1174S, 2004.

MEDEIROS, S. R. Ácido linoleico conjugado: teores nos alimentos e seu uso no aumento da produção de leite com maior teor de proteína e perfil de AGs modificado. Piracicaba, 2002. 114f. Trabalho de pós-graduação (Doutorado em Agronomia) – Setor de Ciência Animal e Pastagens, Universidade de São Paulo. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis>> Acesso em: 8 jul. 2003.

MIGUEL, I. B. Introducción a la alimentación canina y felina – Visión del mercado. *In*: **XVI Curso de Especialización FEDNA**. Barcelona: FEDNA Fundación Española para el desarrollo de la Nutrición Animal, 2000.

MITCHELL, P. L.; LANGILLE, M. A.; CURRIE, D. L.; MCLEOD, R. S. Effect of conjugated linoleic acid isomers on lipoproteins and atherosclerosis in the Syrian Golden hamster. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1734, n. 3, p. 269-276, 2005.

MORALES, I. R.; GALGANI, J. F.; AGUIRRE, C. P.; GATTÁS, V. Z., DÍAZ, E. B. Relación entre la ingesta de ácidos grasos, la oxidación de substratos energéticos y la respuesta insulínica. **Revista chilena de nutrición**, v. 30, n.1, p.15-20, 2003.

MOTTA Jr, M. C. M. Células do sistema imune. Disponível em: <<http://ioh.medstudents.com.br/imuno2.htm>> Acesso em: 25 out. 2005.

MOURÃO, D. M.; MONTEIRO, J. B. R.; COSTA, N. M. B.; STRINGHETA, P. C.; MINIM, V. P. R.; DIAS, C. M. G. Conjugated linoleic acid and weight loss. **Revista de Nutrição**, v. 18, n..3, p. 391-399, 2005.

NICOLOSI, R J; ROGERS, E J; KRITCHEVSKY D, SCIEMECA, J. A.; HUTH, P J. Dietary conjugated linoleic acid reduces plasma lipoprotein and early aortic atherosclerosis in hypercholesterolaemic hamsters. **Artery**, v.22, p.266-277, 1997.

O'SHEA, M.; BASSAGANYA-RIERA, J.; MOHEDE, I. C. M. Immunomodulatory properties of conjugated linoleic acid. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, n. 6, p.1199S-1206S, 2004.

PAGOTTO, S. H. G. Beagle sua origem. Disponível em: <<http://www.petbr.com.br/rcbeagle.asp>> Acesso em: 29 jun. 2005.

PARIZA, M. W. Perspective on the safety and effectiveness of conjugated linoleic acid. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 79S, p. 1132S - 1136S, 2004.

PARIZA, M. W.; PARK, Y.; COOK, M. E. Mechanisms of action of conjugated linoleic acid: evidence and speculation. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 223, p. 8-13, 2000.

PARIZA, M. W.; PARK, Y.; COOK, M. E. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. **Progress in Lipid Research**, v. 40, p. 283-298, 2001.

PARK, Y.; ALBRIGHT, K. J.; LIU, W.; STORKSON, J. M.; COOK, M. E.; PARIZA, M. W. Effect of conjugated linoleic acid on body composition in mice. **Lipids**, v. 32, n.8, p. 853-858, 1997.

RAHMAN, S. M.; WANG, Y. M.; YOTSUMOTO, H.; CHA, J. Y.; HAN, S. Y.; INOUE, S.; YANAGITA, T. Effects of conjugated linoleic acid on serum leptin concentration, body-fat accumulation, and β -oxidation of fatty acid in OLETF. **Rats Nutrition**, v. 17, p. 385-390, 2001.

RISÉRUS, U.; VESSBY, B.; ÄRNLÖV, J.; BASU, S. Effects of *cis-9,trans-11* conjugated linoleic acid supplementation on insulin sensitivity, lipid peroxidation, and proinflammatory markers in obese men. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 80, n. 2, p. 279-283, 2004.

ROCHE HM, NOONE E, NUGENT A, GIBNEY MJ Conjugated linoleic acid (CLA): a novel therapeutic nutrient? **Nutrition Research Review**, v. 14, p. 173-187, 2001.

SABARENSE, C. M.; MANCINI, J. F. Efeito da gordura vegetal parcialmente hidrogenada sobre a incorporação de AGs *trans* em tecidos de ratos. **Revista de Nutrição**, v. 4, p.339-407, 2003.

SANHUEZA, J. C.; NIETO, S. K.; VALENZUELA, A. B. Acido linoleico conjugado: un acido graso con isomeria *trans* potencialmente beneficioso. **Revista Chilena de Nutrición**, v. 29, n. 2, p. 98-105, 2002.

SANTOS, F. L.; SILVA, M. T. C.; LANA, R. P.; BRANDÃO, S. C.C.; VARGAS, L. H. V.; ABREU, L. R. Effect of Lipids Supplementation in the Ration on Production of Conjugated Linoleic Acid (CLA) and Milk Fat Composition of Dairy Cows. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.6, p.1931-1938, 2001.

SHARON, A. Clinical Weight Management for dogs and cats. *In: Proceedings WSAVA — The 28th Congress of the World Small Animal Veterinary Association in Thailand*, Bangkok: WSAVA, p. 56-69, 2003.

SUGANO, M.; TSUJITA, A.; YAMASAKI, M.; NOGUCHI, M.; YAMADA, K. Conjugated linoleic acid modulates tissue levels of chemical mediator and immune globulins in rats. **Lipids** 1998; 33: 521-527.

SUNVOLD, G. D.; MURRAY, S. M. Nutritional Management of weight in dogs and cats. *In: Proceedings WSAVA — The 28th Congress of the World Small Animal Veterinary Association in Thailand*, Bangkok : WSAVA, p.50-55, 2003.

TIZARD, I. R. **Imunologia Veterinária: uma Introdução**. 6. ed. São Paulo: Roca, 2002. 531p.

TSUBOYAMA-KASAOKA, N.; TAKAHASHI, M.; TANEMURA, K.; KIM, H.; TANGE, T.; OKUYAMA, H.; KASAI, M.; IKEMOTO, S.; EZAKI, O. Conjugated Linoleic Acid Supplementation Reduces Adipose Tissue by Apoptosis and Develops Lipodystrophy in Mice. **Diabetes**, v. 49, p.1534–1542, 2000.

VISENTAINER, J. V. ; GOMES, S. T. M. ; HAYASHI, C. ; SANTOS-JÚNIOR, O. O.; SILVA, A. B. M.; JUSTI, K. C.; SOUZA, N. E.; MATSUSHITA, M. Effect of ration supply time with flaxseed oil on physico-chemical composition and fatty acids of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) heads. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, n.3, p.478-484, 2003.

WANG, Y.; JONES, P. J.H. Dietary conjugated linoleic acid and body composition. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 79S, p. 1153S-1158S, 2004.

WEST, D. B.; BLOHM, F.Y.; TRUETT, A. A.; DELANY, J. P. Conjugated linoleic acid persistently increases total energy expenditure in AKR/J mice without increasing uncoupling protein gene expression. **Journal Nutrition**, v. 130, p. 2471-2477, 2000.

WILSON, T. A.; NICOLOSI, R. J.; CHRYSAM, M.; KRITCHEVSKY, D. Conjugated linoleic acid reduces early aortic atherosclerosis greater than linoleic acid in hypercholesterolemic hamsters. **Nutrition Research Review**, v.20, p.1795-1805, 2000.

CAPÍTULO 2 - DIGESTIBILIDADE DOS NUTRIENTES COM A INCLUSÃO DE ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO NA DIETA DE CÃES

RESUMO - Foram realizados dois ensaios de digestibilidade utilizando cães da raça Beagle com sete e 15 meses de idade, com o objetivo de avaliar o efeito da inclusão do ácido linoleico conjugado (ALC) sobre a digestibilidade da matéria seca e nutrientes em cães. Os animais foram alimentados individualmente duas vezes ao dia, sendo o fornecimento de água a vontade. As dietas experimentais eram isonutritivas, diferindo apenas quanto à inclusão de ALC, tomando-se o cuidado de acrescentar a dieta controle uma quantidade de lipídeos na forma de gordura de frango equivalente à quantidade de ALC adicionada (0,3%), para que as dietas fossem isoenergéticas. Os coeficientes de digestibilidade aparente de matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo e extrativos não nitrogenados não foram afetados pela inclusão de ácido linoleico conjugado, mostrando que a adição do produto não interferiu no processo de digestão dos nutrientes. Em ambos ensaios de digestibilidade, observou-se um valor de energia metabolizável superior para as dietas com inclusão de ácido linoleico conjugado ($p < 0,01$) quando comparada com a dieta controle.

Palavras-chave: cães, CLA, digestibilidade, energia metabolizável

1. INTRODUÇÃO

Normalmente os rótulos das rações para cães trazem valores da composição nutricional mínima (para proteína bruta, extrato etéreo e fósforo) e máxima (para umidade, fibra bruta, cinzas ou matéria mineral e cálcio). Entretanto, não dispõem de dados referentes a digestibilidade e ao valor biológico da proteína. Quando se avalia alimento para cães, os valores da composição nutricional são importantes, porém não menos importantes são os valores de palatabilidade e digestibilidade (LÔBO JR *et al.*, 2001).

Os testes de digestibilidade aparentes têm como função estimar o quanto de alimento é absorvido e aproveitado após sofrer os processos de digestão e absorção pelo trato gastrointestinal. O teste é chamado “digestibilidade aparente” pois nas análises bromatológicas das fezes o resultado é a composição das fezes, que na realidade, não são compostas apenas de resíduos da dieta. Existem diversos processos no organismo que acrescentam substâncias às fezes e que alteram os resultados: secreções de células do intestino, células mortas, bactérias e seus produtos, bile, enzimas digestivas. Apesar dessas desvantagens, o teste de digestibilidade aparente é muito eficaz para estimar a digestibilidade de nutrientes (exceto a matéria mineral) (ANDRIGUETTO *et al.*, 1981).

O ALC é um termo coletivo para definir um grupo de isômeros posicionais e geométricos. Alguns trabalhos têm mostrado menor deposição de gordura corporal, em modelos animais e humanos recebendo dietas suplementadas com ALC. O aumento do metabolismo energético induzido pelo ALC é um dos vários mecanismos sugeridos para explicar a diminuição da gordura corporal (CHOI *et al.*, 2004).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do fornecimento de ácido linoleico conjugado sobre a digestibilidade da matéria seca e nutrientes em cães da raça Beagle com sete e 15 meses de idade.

2. MATERIAL E MÉTODO

Este experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da PUCPR, sob registro no CEPA/PUCPR nº 23.

2.1. LOCAL DO EXPERIMENTO

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Estudos de Nutrição Canina, do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Paraná.

2.2. GRUPO EXPERIMENTAL

Foram utilizados 16 cães da raça Beagle, aos sete e 15 meses de idade; sendo dez fêmeas e seis machos. Os animais foram cedidos por um canil particular, sendo oriundos de três ninhadas com datas de nascimento aproximadas. Os cães foram divididos aleatoriamente em dois grupos: controle e ALC.

2.3. DIETAS EXPERIMENTAIS

Os ingredientes utilizados na formulação de ambas as dietas foram os mesmos, com exceção do ALC que foi acrescentado somente na dieta ALC (TABELA 2.1). O produto¹ usado neste experimento possui uma mistura preponderante de dois isômeros (*cis*-9, *trans*-11 e *trans*-10, *cis*-12).

¹ LUTA-CLA 60 é um óleo líquido incolor, composto de 60% de éster de metil de ácido linoleico conjugado, com uma proporção de isômeros de 1:1 (*cis*-9, *trans*-11; *trans*-10, *cis*-12).

O ALC usado neste experimento é um óleo de origem vegetal (óleo de girassol), contendo cerca de 60% de ALC, na proporção de 1:1 dos isômeros *cis*-9, *trans*-11: *trans*-10, *cis*-12; isômeros obtidos através de reações químicas. O restante do produto consiste em outros isômeros do ácido linoleico (menos que 1% cada) e outros ácidos graxos (ácido oleico-22%, ácido palmítico-6%, ácido esteárico- 4%, ácido linoleico-2%) (COUSINS^a *et al.*, 2004).

TABELA 2.1 - Ingredientes usados na formulação das dietas controle e teste (ALC).

| Ingrediente | Controle (kg/t) | ALC(kg/t) |
|-----------------------------|------------------------|------------------|
| Farelo de Milho | 50 | 50 |
| Quirera de Milho | 100 | 100 |
| Farelo de Soja | 70 | 70 |
| Quirera de Arroz | 320 | 320 |
| Levedura de Cerveja | 10 | 10 |
| Farinha de Peixe | 45 | 45 |
| Farinha de Visceras de Aves | 320 | 320 |
| Óleo de Milho | 10 | 10 |
| Leite em Pó Integral | 9 | 9 |
| Sal Comum | 4,56 | 4,56 |
| Aroma de Alho | 0,04 | 0,04 |
| Vitamina C | 0,15 | 0,15 |
| Aroma de Leite em Pó | 5 | 5 |
| Anti-oxidante | 0,20 | 0,20 |
| Aroma de Leite | 0,25 | 0,25 |
| <i>Yucca</i> | 0,25 | 0,25 |
| Beterraba em Pó | 3 | 3 |
| Adsorvente de Micotoxinas | 0,50 | 0,50 |
| Premix Vitamínico / Mineral | 5 | 5 |
| Ovo em Pó | 8 | 8 |
| Plasma | 8 | 8 |
| Minerais Complexados | 0,5 | 0,5 |
| Extrato Levedura (MOS) | 1,0 | 1,0 |
| Óleo de aves | 30 | 25 |
| LUTA-CLA 60 | 0 | 5 |

Em ambas as dietas; uma fração de palatabilizante foi acrescentada na fábrica de ração da Fazenda Experimental Cangüiri da UFPR, sendo acrescentado também ALC na dieta teste (ALC). A mistura dos croquetes com o óleo foi feita num misturador do tipo duplo cone (35 rpm) deixando-se 15 minutos para misturar 75 kg de ração. A ração controle era misturada antes da ração ALC.

Parte das amostras de ração foi congelada enquanto que o restante foi usado para as análises de proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra bruta (FB), resíduo mineral (RM), cálcio (Ca) e fósforo (P); de acordo com SILVA (1998).

A água foi fornecida *ad libitum*. Enquanto que a alimentação durante todo o período experimental foi fornecida duas vezes ao dia, as 10 e 18 horas, a quantidade fornecida por animal foi calculada através da necessidade energética diária de manutenção, calculada através da equação $132 \times \text{peso corporal}^{0,75}$ (NRC, 1974), ajustada de acordo com a fase de crescimento e temperatura do ambiente (ANEXO 2 – TABELA 2.5). Sendo também utilizada a equação para calcular a energia metabolizável (EM) do alimento, $EM \text{ (Kcal/100g de alimento)} = (3,5 \times PB) + (8,5 \times EE) + (3,5 \times ENN)$; para ser possível calcular a ingestão diária necessária para cada cão.

2.4. ENSAIO DE DIGESTIBILIDADE

Foram realizados dois ensaios de digestibilidade durante o experimento, aos sete e aos 15 meses de idade. Ambos os ensaios tiveram a fase de adaptação e a fase de coleta. A fase de adaptação teve duração de cinco dias com a finalidade do animal se adaptar a gaiola metabólica e a dieta.

Na fase de coleta, as amostras de fezes foram coletadas duas vezes por dia, sendo identificadas e armazenadas em freezer. As fezes produzidas pelos

cães durante o experimento foram de boa qualidade, não sendo verificados episódios de diarreia ou constipação. Os pacotes com as amostras foram identificados com etiquetas contendo o nome do cão, tratamento (controle ou ALC), data e período (manhã ou tarde) de coleta.

No final da fase de coleta (120 horas), as amostras individuais foram descongeladas e homogeneizadas em recipientes de alumínio previamente identificado. As amostras foram levadas para a estufa a 65°C durante 48 horas. Após esse período, as amostras foram moídas e armazenadas em frascos esterilizados já identificados.

As análises para PB, EE, FB, RM, Ca e P das rações e fezes foram feitas de acordo com SILVA (1998). Para análise de energia bruta das rações e fezes, foi usada a bomba calorimétrica. Todas as análises foram feitas em duplicata, sendo refeito caso desse uma diferença acima de 5% entre os resultados das análises.

2.4.1 Cães com sete meses de idade

Para este ensaio de digestibilidade foram utilizados 12 cães. Os cães foram mantidos nas próprias baias separadas por uma grade durante oito dias, três dias para se adaptarem a limitação do espaço e cinco dias para fase de coleta.

2.4.2 Cães com 15 meses de idade

No segundo ensaio de digestibilidade, a fase de adaptação foi de cinco dias, assim como a fase de coleta, segundo recomendação da AAFCO (2000). Os dezesseis cães foram alojados em gaiolas metabólicas individuais (ANEXO 2 – FIGURA 2.1).

2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O experimento seguiu um delineamento inteiramente casualizado, com 12 unidades experimentais no primeiro ensaio com seis repetições por tratamento e

16 unidades experimentais no segundo ensaio de digestibilidade com oito repetições, sendo avaliado dois tratamentos em ambos experimentos. Os coeficientes de digestibilidade aparente e energia metabolizável foram submetidos inicialmente ao teste de Bartlett para verificar homogeneidade das variâncias dos tratamentos, para posterior análise de variância e, as médias comparadas pelo teste de T a 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS

Por meio da TABELA 2.2 verifica-se o resultado da análise laboratorial das dietas e das TABELAS 2.3 e 2.4, os coeficientes de digestibilidade aparente (média \pm desvio padrão) para sete e 15 meses de idade, respectivamente.

TABELA 2.2 – Análise laboratorial das dietas fornecidas para o grupo controle e ALC.

| | | CONTROLE | ALC |
|-----------------------------------|---|----------|-------|
| Umidade | % | 8,42 | 8,72 |
| PB (proteína bruta) | % | 26,77 | 26,32 |
| EE (extrato etéreo) | % | 9,52 | 9,58 |
| FB (fibra bruta) | % | 1,09 | 1,23 |
| RM (resíduo mineral) | % | 9,97 | 9,84 |
| Ca (cálcio) | % | 2,70 | 2,60 |
| P (fósforo) | % | 1,32 | 1,32 |
| ENN (extrativos não nitrogenados) | % | 44,23 | 44,31 |

TABELA 2.3 – Coeficientes de digestibilidade e energia metabolizável de dietas fornecidas para cães com sete meses de idade.

| Dieta | Coeficiente de Digestibilidade (%) | | | | EM (kcal/kg) |
|----------|------------------------------------|------------|------------|------------|-----------------------------|
| | MS | PB | EE | ENN | |
| Controle | 92,11±1,97 | 84,03±3,23 | 90,43±2,97 | 91,28±2,01 | 3385,2 ^b ± 111,2 |
| ALC | 92,65±0,63 | 84,04±1,95 | 92,34±1,03 | 91,10±0,83 | 3547,6 ^a ± 51,6 |
| <i>p</i> | 0,5428 | 0,9933 | 0,1686 | 0,8476 | 0,0088 |
| CV (%) | 3,61 | 3,02 | 2,56 | 1,60 | 3,42 |

^{a,b} - Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na coluna diferem entre si a 5 % de significância segundo Teste T.

p - Valor de Probabilidade.

CV – Coeficiente de variação.

TABELA 2.4- Coeficientes de digestibilidade e energia metabolizável de dietas fornecidas para cães com 15 meses de idade.

| Dieta | Coeficiente de Digestibilidade (%) | | | | EM (kcal/kg) |
|----------|------------------------------------|------------|------------|------------|----------------------------|
| | MS | PB | EE | ENN | |
| Controle | 92,37±0,45 | 85,09±1,12 | 93,97±1,21 | 91,22±1,25 | 3472,9 ^b ± 36,6 |
| ALC | 92,86±1,18 | 86,50±2,53 | 93,99±0,97 | 92,59±1,46 | 3581,7 ^a ± 63,5 |
| <i>p</i> | 0,2941 | 0,1739 | 0,9661 | 0,0644 | 0,0009 |
| CV (%) | 0,97 | 2,36 | 1,13 | 1,62 | 2,13 |

^{a,b} - Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na coluna diferem entre si a 5% de significância segundo teste T.

p - Valor de Probabilidade.

4. DISCUSSÃO

Na avaliação dos coeficientes de digestibilidade aparente para cães com sete e 15 meses de idade não foram observadas diferenças significativas entre os grupos controle e ALC. Estes dados corroboram com os encontrados por COUSINS *et al.* (2004^b).

COUSINS *et al.* (2004^b) conduziram um experimento de ensaio de digestibilidade com cães da raça Beagle adultos, seguindo protocolo da AAFCO, usando dietas com e sem ALC (0,5%). Observaram que não houve diferença significativa entre os coeficientes de digestibilidade para matéria seca, energia,

proteína, gordura e extrativos não nitrogenados entre as dietas controle e ALC. Concluindo que o ALC não exerce efeito negativo sobre a digestibilidade de nutrientes.

No entanto houve diferença significativa para energia metabolizável entre as dietas controle e ALC, tanto para o ensaio de digestibilidade com cães de sete como de 15 meses de idade. Este achado não foi observado em experimento conduzido por COUSINS *et al.* (2004^b).

A idade do cão é uma importante característica que deve ser considerada ao se interpretar resultados de experimentos nutricionais e de casos clínicos (SWANSON *et al.*, 2004).

Em estudos com camundongos que receberam dieta com ALC, observou-se uma diminuição da ingestão de energia e de depósito de gordura, além de um aumento da velocidade metabólica e taxa respiratória; efeitos que resultam em uma diminuição do acúmulo de gordura corporal (WEST *et al.*, 1998; OHNUKI *et al.*, 2001; TERPSTRA *et al.*, 2002).

Segundo TERPSTRA *et al.* (2002) foi observado também que o ALC aumentou a excreção de energia nas fezes e obteve-se significativa diminuição na digestibilidade aparente de energia bruta. A digestibilidade aparente de gordura nos camundongos que receberam alimentação restrita com ALC foi significativamente menor que o grupo controle.

5. CONCLUSÕES

- Os coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes e matéria seca não foram afetados pela inclusão do ALC em dietas para cães da raça Beagle aos sete e 15 meses de idade.

- A energia metabolizável do alimento suplementado com ALC mostrou-se significativamente superior ao alimento controle em ambos ensaios de digestibilidade ($p < 0,01$).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AAFCO **Association of American Feed Control Officials**. Official Publication, p.135-56, 2000.

ANDRIGUETTO, J.M.; PERLY, L.; MINARDI, I.; GEMAEL, A.; FLEMMING, J. S.; SOUZA, G. A.; FILHO, A. B. **Nutrição animal – As bases e os fundamentos da nutrição animal**. V.1. ed.5. São Paulo, Nobel, 1981. 395p.

CHOI, J. S.; JUNG, M. H.; PARK, H. S.; SONG, J. Effect of conjugated linoleic acid isomers on insulin resistance and mRNA levels of genes regulating energy metabolism in high-fat-fed rats. **Nutrition**, v. 20, p. 1008-1017, 2004.

COUSINS, B.W.; KELLER, T.; KASPERS, K.; DECKARDT, S.; BURKHARDT, S.; RAVENZWAAY, B. V. Conjugated Linoleic Acid is safe to be fed growing dogs. **Proceedings of the Nestlé-Purina Nutrition Forum**, St. Louis: Nestlé-Purina, 2004^a.

COUSINS, B.W.; KELLER, T.; PELLOWAND, J.; SCHROEDER, G. Effect of conjugated linoleic acid on growth and nutrient digestibility in dogs. **Proceedings of the Nestlé-Purina Nutrition Forum**, St. Louis: Nestlé-Purina, 2004^b.

FRAGA, V.O. Necessidades Nutricionais e Alimentos para Cães. *In: Workshop sobre Manejo e Nutrição de Cães e Gatos*. Pirassununga: ZAZ/FZEA/USP, p.29-39, 2001.

LÔBO JR., M.F., REZENDE, A.S.C., SALIBA, E.O.S., SAMPAIO, I. B. M. Coeficientes de digestibilidade aparente pelos métodos de indicadores e coleta total de fezes em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 53, n. 6, p. 691-694, 2001.

NRC Nutrient Requirements of Dogs, Report n° 8. National Research Council, Washington : National Academy of Sciences, 1974. 83p.

OHNUKI, K.; HARAMIZU, S.; OKI, F.; ISHIHARA, K.; FUSHIKI, T. Increased energy metabolism and suppressed body fat accumulation in mice by a low concentration of conjugated linoleic acid. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 65, p. 2200-2204, 2001.

SILVA, D.J. **Análise de Alimentos – Métodos químicos e biológicos**. ed. 2, Viçosa, UFV, 1998. 165p.

SWANSON, K. S.; KUZMUK, K. N.; SCHOOK, L. B.; FAHEY Jr, G. C. Diet affects nutrient digestibility, hematology, and serum chemistry of senior and weanling dogs. **Journal Animal Science**, v. 82, p. 1713-1724, 2004.

TERPSTRA, A. H. M.; BEYNEN, A. C.; EVERTS, H.; KOCSIS, S.; KATAN, M. B.; ZOCK, P. L. The decrease in body fat in mice fed conjugated linoleic acid is due to increases in energy expenditure and energy loss in excreta. **Journal of Nutrition**, v. 132, p. 940-945, 2002.

WEST, D.B.; DELANY, J.P.; CAMET, P.M.; BLOHM, F.; TRUETT, A.; SEIMECA, J. Effects of conjugated linoleic acid on body fat and energy metabolisms in the mouse. **American Journal Physiology**, v. 275, p. 667R–672R, 1998.

ANEXO 2– DIGESTIBILIDADE DOS NUTRIENTES COM A INCLUSÃO DE ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO NA DIETA DE CÃES

TABELA 2.5- Necessidade energética de cães nas diferentes fases de vida.

| Estágio | Necessidade energética (NE) |
|----------------------------|-----------------------------|
| 40% do peso adulto | 1,6 x NE adulto |
| 80% do peso adulto | 1,2 x NE adulto |
| Temperatura ambiente baixa | 1,2 a 1,8 x NE adulto |

FONTE: adaptado de FRAGA, V.O.².

FIGURA 2.1- Gaiolas metabólicas usadas no experimento.



² FRAGA, V.O. Necessidades Nutricionais e Alimentos para Cães. *In: Workshop sobre Manejo e Nutrição de Cães e Gatos*. Pirassununga: ZAZ/FZEA/USP, p.29-39, 2001.

CAPÍTULO 3 – EFEITOS DO ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO SOBRE COMPOSIÇÃO CORPORAL DE CÃES DA RAÇA BEAGLE

RESUMO – Há muitos procedimentos que podem ser realizados para determinar a composição corporal. Estimativas subjetivas podem ser realizadas para se obter o índice de massa corporal. No entanto, há pouca informação descrita sobre essa técnica em cães, sendo pouco utilizada e estudada apesar de ser facilmente realizada e ter baixo custo. O escore corporal é um tipo de mensuração subjetiva que pode avaliar a quantidade de gordura corporal do animal. Este experimento foi realizado com 16 cães da raça Beagle na fase de crescimento, divididos em dois grupos experimentais e submetidos à distintas dietas (dieta controle *versus* dieta teste contendo ALC). O objetivo deste experimento foi avaliar o efeito do ácido linoleico conjugado sobre a composição corporal dos cães durante a fase de crescimento. As mensurações subjetivas foram realizadas mensalmente, dos seis aos 17 meses de idade dos cães. Resultados obtidos para consumo alimentar, peso, qualidade das fezes, escore corporal, altura, circunferência do tórax e abdômen não apresentaram diferenças significativas quando comparado o grupo ALC com o grupo controle. No entanto, o grupo ALC apresentou menor circunferência da coxa aos nove meses de idade quando comparado ao grupo controle.

PALAVRAS-CHAVE: biometria, cães, CLA, composição corporal

1. INTRODUÇÃO

A ação redutora do peso corporal atribuída ao ácido linoleico conjugado (ALC) tem estimulado uma crescente exploração comercial deste tipo de ácido graxo. Em muitos estudos, não foi notada uma diminuição da ingestão de alimento, mas sim uma redução de gordura e peso corporal (SANHUEZA *et al.*, 2002). O efeito do ALC sobre peso corporal foi analisado em vários animais, camundongos, ratos e suínos. Muitos estudos mostram que o ALC diminui o ganho de peso, enquanto outros não mostram nenhum efeito (WANG e JONES, 2004). Especialmente em camundongos, o ALC parece afetar substancialmente a composição corporal pela redução de tecido adiposo, porém de forma mais lenta do que em ratos (PARK *et al.*, 1999).

Camundongos suplementados com 0,5% de ALC (com predominância dos isômeros *cis*-9, *trans*-11 e *trans*-10, *cis*-12, 1:1) exibiram diminuição de 60% da gordura corporal e aumento de 14% na massa magra, quando comparados com os controles. Verificou-se, ainda, nesse trabalho, redução na atividade da lipase lipoprotéica em cultura de adipócitos 3T3-L1, também tratados com 0,0029% de ALC, e maior liberação de ácidos graxos, possivelmente pela redução da deposição de lipídios e aumento da lipólise (PARK *et al.*, 1997).

Segundo WANG e JONES (2004), os mecanismos de ação do ALC para o efeito antiobesidade incluem: diminuição da ingestão energética e de alimento, diminuição da lipogênese e, aumento do gasto energético, lipólise, e oxidação de gordura.

Havendo tanta divergência da literatura científica atual sobre o efeito do ALC na composição corporal, este trabalho teve como objetivo avaliar alterações da composição corporal dos cães da raça Beagle durante a fase de crescimento, através de pesagem, e mensurações subjetivas como circunferência abdominal, torácica e da coxa.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Este experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da PUCPR, sob registro no CEPA/PUCPR nº 23.

2.1 LOCAL E PERÍODO DO EXPERIMENTO

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Estudos de Nutrição Canina, do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Paraná. O período para realização da fase experimental da pesquisa foi de 11 meses, iniciando em setembro de 2003 e finalizando em outubro de 2004. Os dois primeiros meses foram destinados à adaptação dos cães ao alimento, instalações e manejo e; realização de exames físico, hematológico, bioquímico e coproparasitológico em cada cão, para atestar sua higidez.

2.1.1 Grupo Experimental

Foram utilizados 16 cães da raça Beagle, durante o período de crescimento, dos seis aos 17 meses de idade; sendo dez fêmeas e seis machos.

Foram divididos aleatoriamente em dois grupos: controle e teste (ALC) (ANEXO 3 – TABELA 3.9).

2.1.2 Instalações

Durante todo o período experimental os animais foram alojados em oito baias, sendo distribuídos de forma a permanecerem dois animais de mesmo sexo por baia. As baias apresentavam piso de cimento e mediam cerca de 1,5m de largura por 2m de comprimento. Os cães ficavam soltos por uma média de seis horas por dia numa área de cerca de 1000m² (ANEXO 3 – FIGURA 3.3 e 3.4).

2.2 DIETAS EXPERIMENTAIS

Os ingredientes utilizados na formulação de ambas as dietas foram os mesmos, com exceção do ALC que foi acrescentado somente na dieta teste (0,3%). O produto¹ usado neste experimento possui uma mistura predominante de dois isômeros (*cis*-9, *trans*-11 e *trans*-10, *cis*-12).

A água foi fornecida *ad libitum*, enquanto que a alimentação durante todo o período experimental foi fornecida duas vezes ao dia, as 10 e 18 horas. A quantidade fornecida por animal foi calculada através da necessidade energética diária de manutenção, ajustada de acordo com a fase de crescimento e temperatura do ambiente. Durante os dois primeiros meses os cães foram adaptados a ingerirem o alimento em locais pré-estabelecidos das baias (ANEXO 3 – FIGURA 3.2), bem como não trocaram de prato e que permaneceriam com o prato por até 30 minutos. Os pratos utilizados foram identificados individualmente para facilitar a pesagem da comida oferecida e o resto de alimento.

2.3 AVALIAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR E ESCORE DE FEZES

Durante todo o experimento, a quantidade fornecida de alimento foi anotada de manhã e de tarde, bem como as sobras. O consumo de alimento diário de cada cão foi mensurado pesando a quantidade de alimento fornecida menos a sobra. Mesmo os cães tendo sido treinados para não trocaram de prato, para evitar erros, durante a ingestão do alimento sempre alguém acompanhava os animais na baia.

A consistência das fezes foi anotada diariamente em todo o período experimental através da utilização de escores (ANEXO 3 – TABELA 3.10).

2.4 AVALIAÇÃO DA CONDIÇÃO CORPORAL

¹ LUTA-CLA 60 é um óleo líquido incolor, composto de 60% de éster de metil de ácido linoleico conjugado, com uma proporção de isômeros de 1:1 (*cis*-9, *trans*-11; *trans*-10, *cis*-12).

Os cães foram pesados a cada duas semanas, sempre em jejum, para avaliação da manutenção de peso. Mensalmente, a espessura da pele foi medida com o paquímetro na região dorsal do pescoço (entre as pontas das escápulas); o escore corporal (ANEXO 3 – FIGURA 3.5) durante todo o experimento foi avaliado pela mesma pessoa, a qual não sabia a que grupo os animais pertenciam, evitando dados não confiáveis.

Também, mensalmente, para avaliar crescimento e depósito de gordura subcutânea foram usados métodos subjetivos, como, mensuração do comprimento do corpo (da ponta do focinho até a ponta da cauda com o cão em estação); altura (ponta da escápula até o piso com o cão em estação); circunferência da coxa do membro posterior esquerdo (cão em decúbito lateral direito e o membro posterior esquerdo em extensão; ponto médio entre a patela e o trocânter maior do fêmur); circunferência torácica (com o cão em estação no sétimo espaço intercostal) e a circunferência abdominal (ponto médio entre a asa do íleo e a última vértebra torácica com o cão em estação); todas essas medidas foram mensuradas com o auxílio de uma fita métrica, sendo mensuradas três vezes e depois feita a média entre as três medidas anotadas.

Durante o experimento para atestar a saúde dos cães e comparações no final do experimento, mensalmente, foi realizada ausculta cardíaca e pulmonar, contagem de movimentos respiratórios e batimentos cardíacos por minuto, tempo de preenchimento capilar, aferição da temperatura corporal, verificação da coloração das mucosas e tamanho dos linfonodos (axilar, cervical e popliteal).

2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Utilizou-se um delineamento inteiramente ao acaso com parcela subdividida no tempo, sendo cada tratamento com oito repetições.

Os resultados foram submetidos à análise de variância. Inicialmente as variâncias dos tratamentos foram avaliadas quanto a sua homogeneidade pelo

teste de Bartlett. As variáveis que apresentaram heterogeneidade tiveram os valores originais transformados para posterior análise de variância.

A variável circunferência da coxa apresentou variâncias dos tratamentos não homogêneas, requerendo transformação dos dados (logaritmo) antes de se realizar a análise de variância.

Quando os resultados revelaram existir diferenças estatisticamente significantes entre médias de tratamentos, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS

3.1 AVALIAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR E ESCORE FECAL

Para consumo alimentar, não se verificou interação entre os fatores dieta e idade, indicando que seus efeitos são independentes. No entanto, para idade dos cães houve diferença estatística significativa ($p < 0,01$) (TABELA 3.1).

TABELA 3.1 – Consumo mensal em quilogramas por indivíduo aos oito, 12 e 16 meses de idade.

| Dieta | Idade (meses) | | |
|-----------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | 8 | 12 | 16 |
| Controle | 6,88 ^c ± 0,60 | 7,37 ^b ± 0,64 | 9,14 ^a ± 0,49 |
| ALC | 6,81 ^c ± 0,65 | 7,48 ^b ± 0,48 | 9,31 ^a ± 0,51 |
| CV (%) | 8,86 | 7,42 | 5,31 |
| χ^2 | | 1,26 ^{ns} | |
| | Probabilidades | | |
| Dieta (D) | - | | |
| Idade (I) | 0,0001 | | |
| D*I | - | | |

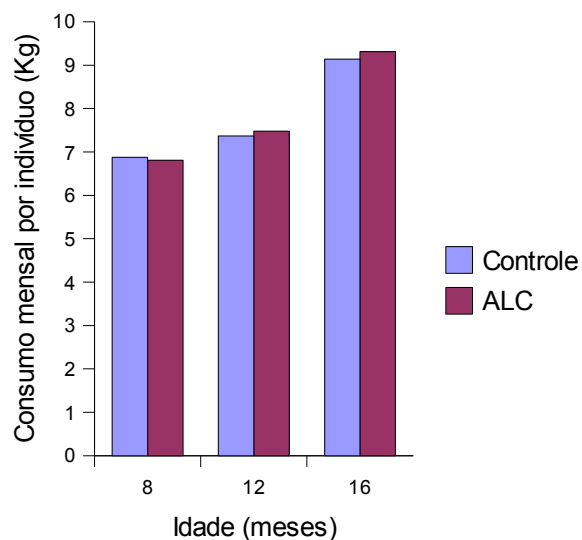
^{a,b,c} - Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na linha diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

^{ns} - não significativo

CV – Coeficiente de variação; χ^2 - qui-quadrado.

Na FIGURA 3.1 observa-se o gráfico para consumo alimentar.

FIGURA 3.1- Consumo alimentar mensal por individuo do grupo controle e ALC aos oito, 12 e 16 meses de idade.



Para escore fecal, não foram observadas diferenças estatísticas significativas durante todo o período experimental (TABELA 3.2).

Tabela 3.2- Mediana do escore fecal para o grupo controle e ALC aos seis, oito, dez, 12, 14 e 16 meses de idade.

| Dieta | Idade (meses) | | | | | |
|----------------|---------------|------|------|------|------|------|
| | 6 | 8 | 10 | 12 | 14 | 16 |
| Controle | 3 | 4 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| ALC | 3 | 3 | 3 | 4 | 3 | 3 |
| CV (%) | 5,81 | 7,32 | 6,12 | 6,59 | 4,83 | 5,75 |
| Probabilidades | | | | | | |
| Dieta (D) | 0,2940 | | | | | |
| Idade (I) | 0,2637 | | | | | |
| D*I | - | | | | | |

CV – Coeficiente de variação.

3.2 AVALIAÇÃO DA CONDIÇÃO CORPORAL

3.2.1 Peso vivo e escore corporal

Foi observada diferença estatística significativa somente para o fator idade dos cães ($p < 0,01$) (TABELA 3.3).

TABELA 3.3– Peso vivo dos cães em quilograma aos seis, dez e 16½ de idade, para os grupos controle e ALC.

| Dieta | Idade (meses) | | |
|----------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | 6 | 10 | 16½ |
| Controle | 9,69 ^b ± 1,27 | 10,91 ^a ± 1,35 | 11,14 ^a ± 1,21 |
| ALC | 9,71 ^b ± 1,11 | 10,74 ^a ± 1,42 | 10,88 ^a ± 1,30 |
| CV (%) | 11,90 | 12,36 | 11,11 |
| χ^2 | 2,47 ^{ns} | | |
| Probabilidades | | | |
| Dieta (D) | - | | |
| Idade (I) | 0,0001 | | |
| D*I | - | | |

^{a,b} - Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na linha diferem entre si pelo teste Tukey (p<0,05).

CV – Coeficiente de variação

χ^2 - qui-quadrado

^{ns} - não significativo.

Escore corporal não apresentou diferença estatística significativa durante o experimento (TABELA 3.4).

Tabela 3.4 - Mediana do escore corporal para os tratamentos controle e ALC durante a fase de crescimento.

| Dieta | Idade (meses) | | | | | |
|----------------|---------------|-------|------|-------|------|------|
| | 6 | 8 | 10 | 12 | 14 | 16 |
| Controle | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| ALC | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| CV (%) | 15,06 | 17,39 | 8,16 | 15,06 | 8,51 | 8,79 |
| Probabilidades | | | | | | |
| Dieta (D) | 0,2710 | | | | | |
| Idade (I) | 0,2047 | | | | | |
| D*I | - | | | | | |

CV – Coeficiente de variação.

3.2.2 Altura

Por meio da TABELA 3.5 observa-se diferença estatística significativa somente para idade dos cães.

Tabela 3.5 - Altura dos cães dos grupos controle e ALC nas seguintes idades: 12, 13, 14, 15 e 16 meses.

| Dieta | Idade (meses) | | | | |
|----------------|--------------------|---------------------|-----------------------|---------------------|-------------------|
| | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 |
| Controle | 38.2 ^b | 38.6 ^{a,b} | 38.6 ^{a,b} | 38.9 ^{a,b} | 39.3 ^a |
| ALC | 37.7 ^c | 38.1 ^{b,c} | 38.3 ^{a,b,c} | 38.8 ^{a,b} | 39.3 ^a |
| CV (%) | 7,43 | 7,19 | 6,20 | 5,83 | 6,04 |
| χ^2 | 2,81 ^{ns} | | | | |
| Probabilidades | | | | | |
| Dieta (D) | - | | | | |
| Idade (I) | 0,0001 | | | | |
| D*I | - | | | | |

^{a,b} - Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na linha diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

CV – Coeficiente de variação

χ^2 - qui-quadrado

^{ns} - não significativo.

3.2.3 Mensuração da circunferência do tórax, abdômen e da coxa.

Nas TABELAS 3.6, 3.7 e 3.8 observa-se as médias e desvio padrão da circunferência do tórax, abdômen e da coxa, respectivamente.

TABELA 3.6- Circunferência torácica dos grupos controle e ALC dos cães da raça Beagle durante a fase de crescimento.

| | Circunferência do tórax (cm) | | | | | | | | | | |
|----------|------------------------------|----------------------------|--------------------------|------------------------|------------------------|--------------------------|--------------------------|----------------------------|----------------------------|------------------------|------------------------|
| | Idade (meses) | | | | | | | | | | |
| | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 |
| Controle | 47,6 ^{a,b,c} ±3,8 | 48,1 ^{a,b,c} ±2,9 | 46,9 ^{b,c} ±2,7 | 46,6 ^c ±2,2 | 46,8 ^c ±4,3 | 49,8 ^{a,b} ±1,9 | 50,1 ^a ±2,4 | 48,6 ^{a,b,c} ±2,3 | 49,0 ^{a,b,c} ±2,3 | 49,9 ^a ±2,4 | 50,2 ^a ±2,4 |
| ALC | 47,2 ^{a,b} ±2,5 | 48,5 ^{a,b} ±2,2 | 47,9 ^{a,b} ±2,4 | 46,3 ^b ±3,8 | 46,4 ^b ±4,4 | 48,6 ^{a,b} ±2,6 | 49,2 ^{a,b} ±1,9 | 48,0 ^{a,b} ±2,0 | 48,9 ^{a,b} ±2,2 | 50,1 ^a ±1,9 | 49,4 ^a ±2,8 |
| CV(%) | 6,53 | 5,19 | 5,27 | 6,42 | 9,03 | 4,67 | 4,31 | 4,42 | 4,45 | 4,24 | 5,20 |

^{a,b,c} - Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na linha diferem entre si pelo teste Tukey (p<0,05).

TABELA 3.7- Circunferência abdominal dos grupos controle e ALC dos cães da raça Beagle durante a fase de crescimento.

| | Circunferência abdominal (cm) | | | | | | | | | | |
|----------|-------------------------------|----------------------------|---------------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | Idade (meses) | | | | | | | | | | |
| | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 |
| Controle | 43,3 ^a ±3,2 | 42,8 ^{a,b} ±2,3 | 41,2 ^{a,b,c} ±1,8 | 38,9 ^c ±2,2 | 41,2 ^{a,b,c} ±3,4 | 40,8 ^{a,b,c} ±1,4 | 41,3 ^{a,b,c} ±1,7 | 39,6 ^{b,c} ±2,5 | 39,0 ^c ±2,3 | 43,0 ^a ±2,7 | 40,8 ^{a,b,c} ±3,5 |
| ALC | 42,8 ^{a,b,c} ±2,8 | 42,6 ^{a,b,c} ±2,5 | 41,0 ^{±2,5} ^{a,b,c} | 38,0 ^{a,b,c} ±3,0 | 39,4 ^{a,b,c} ±3,6 | 39,3 ^{a,b,c} ±2,5 | 40,3 ^{a,b,c} ±2,0 | 38,0 ^{a,b,c} ±2,3 | 38,6 ^{a,b,c} ±2,4 | 41,5 ^{a,b,c} ±2,7 | 39,7 ^{a,b,c} ±3,0 |
| CV(%) | 6,79 | 5,44 | 5,07 | 6,74 | 8,71 | 5,18 | 4,57 | 6,28 | 5,86 | 6,37 | 7,93 |

^{a,b,c} - Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na linha diferem entre si pelo teste Tukey (p<0,05).

TABELA 3.8 - Circunferência da coxa dos grupos controle e ALC dos cães da raça Beagle durante a fase de crescimento.

| | Circunferência da coxa (cm) | | | | | | | | | | |
|----------|-----------------------------|------------------------|--------------------------|-------------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|------------------------|
| | Idade (meses) | | | | | | | | | | |
| | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 |
| Controle | 30,4 ^a ±3,4 | 30,8 ^a ±2,0 | 25,3 ^{b,c} ±1,5 | 26,8 ^b ^A ±1,1 | 25,3 ^{b,c} ±1,3 | 23,8 ^{c,d} ±0,8 | 23,8 ^{c,d} ±0,8 | 23,4 ^d ±0,4 | 22,7 ^d ±0,6 | 22,4 ^d ±0,7 | 22,3 ^d ±0,9 |
| ALC | 28,4 ^a ±3,1 | 29,5 ^a ±2,2 | 23,8 ^{b,c} ±2,4 | 25,2 ^b ^B ±1,5 | 25,3 ^b ±1,2 | 23,3 ^{c,d} ±0,7 | 23,8 ^{b,c} ±0,8 | 22,9 ^{c,d} ±0,7 | 22,6 ^{c,d} ±0,5 | 22,6 ^{c,d} ±0,6 | 22,0 ^d ±1,0 |
| CV(%) | 11,22 | 7,16 | 8,50 | 5,84 | 4,81 | 3,30 | 3,32 | 2,53 | 2,31 | 2,77 | 4,07 |

^{a,b,c,d} - Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na linha diferem entre si pelo teste Tukey (p<0,05).

^{A,B} - Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na coluna diferem entre si a 5 % de significância segundo o Teste Tukey.

4. DISCUSSÃO

Neste experimento, para consumo alimentar, não se verificou interação entre os fatores dieta e idade, indicando que seus efeitos são independentes. No entanto, para idade dos cães houve diferença estatística significativa, concordando com as necessidades energéticas descritas por FRAGA (2001) para cães nas diferentes fases de vida.

Segundo FRAGA (2001), a recomendação da quantidade de nutrientes necessários é baseada na energia contida na dieta. As informações disponíveis são variáveis e dependem de diversos fatores, entre eles a idade, função, estado fisiológico e condição ambiental.

A taxa de crescimento nos primeiros estágios é muito rápida e, em geral, muitas raças de cães atingem 50% do peso adulto com uma idade entre 5 a 6 meses. Entretanto por causa da grande variedade em peso corporal, raças diferentes têm taxas de crescimento diferentes. Em geral cães de porte grande levam mais tempo para atingirem o peso adulto que cães de raça de porte pequeno. O Beagle, considerado cão de porte médio tende a crescer até cerca de 12 meses. Durante o crescimento os filhotes multiplicam seu peso de nascimento por 40 a 60 vezes, logo aumentam seu consumo gradativamente também (WILL e MORRIS, 1996).

CHOI *et al.* (2004), observaram que a ingestão de alimento foi similar em todos os grupos, usando ratos alimentados com dieta suplementada com mistura de isômeros de ALC ou apenas o isômero *cis-9*, *trans-11* ou *trans-10*, *cis-12* a 1% por oito semanas.

COUSINS *et al.* (2004^a) observaram que os cães alimentados com ALC tiveram aproximadamente a mesma ingestão diária de energia que o grupo controle.

Segundo TERPSTRA *et al.* (2002), não foi observada diferença significativa entre o consumo dos grupos teste e controle, mesmo entre os camundongos que receberam alimentação restrita e a vontade.

Para escore fecal, neste experimento, não foram observadas diferenças estatísticas significativas durante todo o período experimental, corroborando com o descrito por COUSINS *et al.* (2004^a) e SWANSON *et al.* (2004).

O peso vivo dos cães não demonstrou diferença significativa entre os grupos, somente para o fator idade, achado explicado porque foram avaliados cães durante a fase de crescimento neste experimento.

A idade do cão é uma importante característica que deve ser considerada ao se interpretar resultados de experimentos nutricionais (SWANSON *et al.*, 2004).

Usando cães da raça Beagle na fase de crescimento e dietas suplementadas ou não com ALC em várias concentrações, COUSINS *et al.* (2004^b) não observaram diferença significativa entre os tratamentos para peso corporal. Estando o aumento do peso observado de acordo com a curva de crescimento normal.

Foi realizado por SWANSON *et al.* (2004) um estudo com cães em crescimento e idosos, usando dois tipos de dietas, uma com base em produtos de origem animal e outra com ingredientes de origem vegetal. A duração do experimento foi de 12 meses, foram usados cães em crescimento com dois meses de idade da raça Beagle. Dados para monitorar o crescimento foram coletados durante o experimento. Como esperado, os machos cresceram significativamente mais rápido que as fêmeas. Não foi observada diferença na curva de crescimento entre os grupos, pois, a quantidade fornecida de alimento foi correta e as dietas eram balanceadas, ou seja, continham o nível de nutrientes recomendado para a fase de crescimento.

A curva de crescimento apresentada por SWANSON *et al.* (2004) foi semelhante à observada neste experimento.

COUSINS *et al.* (2004^a) observaram após 25 semanas do experimento, usando cães adultos (peso vivo variando de 6,4Kg a 33,8 Kg), que os cães alimentados com ALC (0,5%) ganharam menos peso que o grupo controle, 1,05Kg *versus* 2,13Kg, respectivamente, no entanto não houve diferença estatística para essa característica. Também observaram que os cães que receberam ALC na dieta tenderam a ter menor deposição de gordura que cães que receberam dieta controle.

Segundo ROMSOS *et al.* (1976) é possível que a influência da dieta sobre a composição corporal possa ser mais pronunciada quando usado um período maior de avaliação. Com o propósito de estudar os efeitos do nível de carboidratos, gordura e proteínas na dieta durante a fase de crescimento, avaliaram a composição corporal e níveis séricos de alguns metabólitos em cães da raça Beagle até oito meses de idade. Neste experimento para avaliar massa magra os cães foram mantidos até dez meses, e não houve diferença entre as dietas para essa característica.

Usando ratos alimentados com dieta rica em gordura suplementada com mistura de isômeros de ALC ou apenas o isômero *cis*-9, *trans*-11 ou *trans*-10, *cis*-12 a 1% por oito semanas observou-se que o peso final e o ganho de peso foram significativamente menores para o grupo que recebeu o isômero *cis*-9, *trans*-11 quando comparado com os outros grupos. Esse achado sugere que o isômero *cis*-9, *trans*-11 modifica o balanço energético principalmente através do aumento do gasto energético (CHOI *et al.*, 2004).

Não foi observada diferença significativa do escore corporal durante o experimento, assim como, para as mensurações da altura, circunferência torácica e abdominal não foi demonstrada interação entre os fatores dieta e idade. No entanto, para circunferência da coxa, houve diferença significativa entre as dietas aos nove meses de idade dos cães, sendo o valor maior para o grupo controle (26,8±1,1cm) quando comparado com o grupo ALC (25,2±1,5cm).

Em experimento com humanos obesos que receberam manteiga enriquecida com ALC foi avaliada a composição corporal usando tomografia

computadorizada e não foi demonstrada diferença de acúmulo de tecido adiposo nem visceral ou subcutâneo (RISÉRUS *et al.*, 2004; DESROCHES *et al.*, 2005). No entanto, segundo SMEDMAN e VESSBY (2001), o ALC reduziu a gordura corporal e o diâmetro abdominal em humanos.

A proteína desacopladora 2 (UCP-2) é expressa no músculo esquelético, coração, placenta, pulmão, fígado, rins, pâncreas e tecido adiposo branco. A UCP-3 é expressa principalmente no músculo esquelético e no tecido adiposo marrom (DEPIERI *et al.*, 2004). Ambas, UCP- 2 e 3 quando estimuladas aumentam a expressão do gene de enzimas de oxidação lipídica podendo ser um mecanismo para explicar o efeito de diminuição de gordura corporal do ALC (CHOI *et al.*, 2004).

CHOI *et al.*, 2004 observaram para os grupos que receberam ALC quando comparado ao grupo controle, aumento significativo de UCP-2 e UCP-3 no músculo esquelético e fígado, respectivamente. E não observaram efeitos do ALC sobre os receptores de proliferação de peroxissomos- γ e α pelo menos quanto a transcrição de RNAm.

Estudos realizados com pessoas que apresentavam sobrepeso, demonstraram que a ingestão diária de 3,4g de ALC produziu uma diminuição de tecido adiposo total sem afetar outros parâmetros metabólicos, como o número de eritrócitos e quantidade de massa magra (BLANKSON *et al.*, 2000).

Segundo RISÉRUS *et al.* (2004) parece existir uma relação, ainda não clara, entre redução de gordura corporal e dosagem ou duração da suplementação.

Faz-se necessário o desenvolvimento de mais pesquisas que, entre outras coisas, avaliem separadamente os efeitos dos dois principais isômeros do ALC, e também estudos incluindo medidas de atividade enzimática, como, por exemplo, carnitina palmitoiltransferase, lipase lipoprotéica e lipase hormônio sensível, a fim de esclarecer os reais mecanismos de ação do ALC, e para uma melhor avaliação da hipótese de aumento da lipólise e/ou redução da lipogênese. Assim será possível avaliar melhor os efeitos desses AGs no metabolismo energético,

para que então possam ser usados com segurança e eficiência nas prescrições relacionadas à melhoria da composição corporal e como agente anti-obesidade (MOURÃO *et al.*, 2005).

5. CONCLUSÕES

- A inclusão de ALC (0,3%) na dieta de cães da raça Beagle durante a fase de crescimento não alterou o consumo, peso, qualidade das fezes, escore corporal, altura e circunferência do tórax e abdominal; quando comparados ao grupo controle.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BLANKSON, H.; STAKKESTAD, J. A.; ERLING, H. F.; WADSTEIN, T. J.; GUDMUNDSEN, O. Conjugated linoleic acid reduces body fat mass in overweight and obese humans. **Journal Nutrition**, v. 130, p. 2943-2948, 2000.

CHOI, J. S.; JUNG, M. H.; PARK, H. S.; SONG, J. Effect of conjugated linoleic acid isomers on insulin resistance and mRNA levels of genes regulating energy metabolism in high-fat-fed rats. **Nutrition**, v. 20, p. 1008-1017, 2004.

COUSINS, B.W.; KELLER, T.; KASPERS, K.; DECKARDT, S.; BURKHARDT, S.; RAVENZWAAY, B. V. Conjugated Linoleic Acid is safe to be fed growing dogs. *In: Proceedings of the Nestlé-Purina Nutrition Forum*, St. Louis: Nestlé-Purina, 2004^a.

COUSINS, B.W.; KELLER, T.; PELLOWAND, J.; SCHROEDER, G. Effect of conjugated linoleic acid on growth and nutrient digestibility in dogs. *In: Proceedings of the Nestlé-Purina Nutrition Forum*, St. Louis: Nestlé-Purina, 2004^b.

DEPIERI, T.Z.; PINTO, R. R.; CATARIN, J. K.; CARLI, M. C. L.; GARCIA Jr., J. R. UCP-3: regulação da expressão gênica no músculo esquelético e possível relação com o controle do peso corporal. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 48, n. 3, p.337-344, 2004.

DESROCHES, S.; CHOUINARD, P. Y.; GALIBOIS, I.; CORNEAU, L.; DELISLE, J.; LAMARCHE, B.; COUTURE, P.; BERGERON, N. Lack of effect of dietary conjugated linoleic acids naturally incorporated into butter on the lipid profile and body composition of overweight and obese men. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 82, n. 2, p. 309-319, 2005.

FRAGA, V.O. Necessidades Nutricionais e Alimentos para Cães. *In: Workshop sobre Manejo e Nutrição de Cães e Gatos*. Pirassununga: ZAZ/FZEA/USP, p.29-39, 2001.

MOURAO, D. M.; MONTEIRO, J. B. R.; COSTA, N. M. B.; STRINGHETA, P. C.; MINIM, V. P. R.; DIAS, C. M. G. Conjugated linoleic acid and weight loss. **Revista de Nutrição**, v. 18, n.3, p. 391-399, 2005.

PARK, Y.; ALBRIGHT, K. J.; LIU, W.; STORKSON, J. M.; COOK, M. E.; PARIZA, M. W. Effect of conjugated linoleic acid on body composition in mice. **Lipids**, v. 32, n.8, p. 853-858, 1997.

PARK, Y.; STORKSON, J.M.; ALBRIGHT, K. J.; LIU, W.; PARIZA, M. W. Evidence that the trans-10,cis-12 isomer of conjugated linoleic acid induces body composition changes in mice. **Lipids**, v. 34, n. 3, p. 235-241, 1999.

RISÉRUS, U.; VESSBY, B.; ÄRNLÖV, J.; BASU, S. Effects of *cis-9,trans-11* conjugated linoleic acid supplementation on insulin sensitivity, lipid peroxidation, and proinflammatory markers in obese men. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 80, n. 2, p. 279-283, 2004.

ROMSOS, D. R.; BELO, P. S.; BENNINK, M. R.; BERGEN, W. G.; LEVEILLE, G. A. Effects of dietary carbohydrate, fat and protein on growth, body composition and blood metabolite levels in the dog. **Journal Nutrition**, v. 106, n. 10, p. 1452-1464, 1976.

SANHUEZA, J. C.; NIETO, S. K.; VALENZUELA, A. B. Acido linoleico conjugado: un acido graso con isomeria trans potencialmente beneficioso. **Revista Chilena de Nutrición**, v. 29, n. 2, p. 98-105, 2002.

SMEDMAN, A.; VESSBY, B. Conjugated linoleic acid supplementation in humans – metabolic effects. **Lipids**, v. 36, n. 8, p. 773-781, 2001.

SWANSON, K. S.; KUZMUK, K. N.; SCHOOK, L. B.; FAHEY Jr, G. C. Diet affects nutrient digestibility, hematology, and serum chemistry of senior and weanling dogs. **Journal Animal Science**, v. 82, p. 1713-1724, 2004.

TERPSTRA, A. H. M.; BEYNEN, A. C.; EVERTS, H.; KOCSIS, S.; KATAN, M. B.; ZOCK, P. L. The decrease in body fat in mice fed conjugated linoleic acid is due to increases in energy expenditure and energy loss in excreta. **Journal of Nutrition**, v. 132, p. 940-945, 2002.

WANG, Y.; JONES, P. J.H. Dietary conjugated linoleic acid and body composition. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 79S, p. 1153S-1158S, 2004.

WILLS, J. M.; MORRIS, J, G. Feeding puppies and kittens *In*: KELLY, N. C.; WILLIS, J. **British Small Animal Veterinary Association Manual of Companion Animal Nutrition and Feeding**. London: British Small Animal Veterinary Association, 1996. 300p.

ANEXO 3 – EFEITOS DO ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO SOBRE COMPOSIÇÃO CORPORAL DOS CÃES

TABELA 3.9 - Identificação dos cães pertencentes ao grupo controle e teste (ALC) através de tatuagens.

| GRUPO CONTROLE | GRUPO ALC |
|----------------|---------------|
| B1 – PC10010 | B3 – PC10008 |
| B2 – PC10007 | B15 – PA10002 |
| B4 – PA10001 | B16 – PC10009 |
| B5 – PP10013 | B9 – PC10011 |
| B6 – PP10014 | B10 – PA10005 |
| B7 – PC10012 | B11 – PP10016 |
| B8 – PA10004 | B12 – PP10015 |
| B13 – PA10003 | B14 – PA10006 |

FIGURA 3.2 - Locais (X, Y) estabelecidos para alimentar os cães.

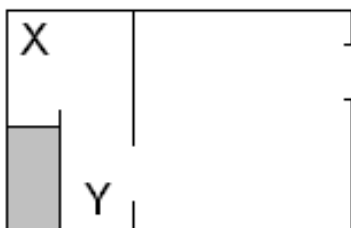


TABELA 3.10 - Sistema de avaliação da consistência das fezes através de escores.

| Escore | Aspecto das fezes |
|--------|----------------------|
| 1 | Fezes líquidas |
| 2 | Fezes pastosas |
| 3 | Fezes pouco pastosas |
| 4 | Fezes normais |
| 5 | Fezes ressecadas |

FONTE: CASE *et al*³.

³ CASE, L. P.; CAREY, D. P.; HIRAKAWA, D. A. **Nutrição canina e felina – Manual para profissionais**. Madrid, Harcourt Brace, 1998. p. 424.

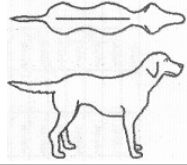
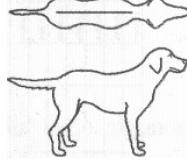
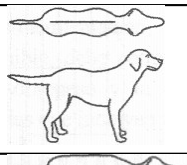
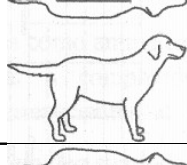

FIGURA 3.3 – Vista externa das baias usadas para alojar os cães.



FIGURA 3.4– Vista geral da área em que os cães ficavam soltos.



FIGURA 3.5 - Sistema de avaliação do escore corporal de pequenos animais.

| | | |
|------------------------|---|--|
| 1 muito magro |  | Costelas, vértebras lombares, ossos pélvicos e todas as saliências ósseas visíveis à distância, ausência de gordura palpável. Curvatura abdominal e cintura bem marcadas (animal caquético). |
| 2 magro |  | Costelas facilmente palpáveis com mínima cobertura de gordura. Curvatura abdominal evidente. |
| 3 normal / ideal |  | Costelas palpáveis com cobertura de gordura e base da cauda com um leve contorno (animal normal). |
| 4 acima do peso |  | Costelas difíceis de palpar. Curvatura abdominal muito pouco marcada. Visto de cima, vê-se a cintura, ainda que esta não esteja marcada. |
| 5 Obeso |  | Costelas muito difíceis de palpar, animal apresenta papo. (animal obeso). Depósitos de gordura visíveis na região lombar e na base da cauda. Curvatura abdominal ausente. |

FONTE: adaptado de SHARON, A⁴.

⁴ SHARON, A. Clinical Weight Management for dogs and cats. In: **Proceedings WSAVA — The 28th Congress of the World Small Animal Veterinary Association in Thailand**, Bangkok: WSAVA, p. 56-69, 2003.

CAPÍTULO 4 – EFEITO DO ALC SOBRE O PERFIL LIPÍDICO PLASMÁTICO E GLICEMIA DE CÃES

RESUMO – Atualmente, a nutrição de cães está sendo reconhecida, como parte integrante dos cuidados preventivos de saúde, protocolos de tratamento de pacientes médicos ou cirúrgicos. Para obter esses efeitos desejados, novos ingredientes estão sendo pesquisados. Este experimento teve como objetivo avaliar o efeito do ácido linoleico conjugado sobre o perfil lipídico e glicemia de cães da raça Beagle em fase de crescimento. Foram utilizados 16 cães divididos aleatoriamente em dois grupos, tendo como única diferença a adição ou não de ácido linoleico conjugado ao alimento. As dietas foram isonutritivas. As avaliações para mensurar concentrações séricas de triglicérides, colesterol total, HDL, LDL, VLDL e glicose foram realizadas em intervalos de seis semanas, através de coleta de sangue por venopunção e análise bioquímica do sangue. O grupo ALC apresentou concentração significativamente maior de LDL aos 16 meses de idade dos cães.

PALAVRAS-CHAVE: cães, CLA, colesterol, glicemia, triglicérides.

1. INTRODUÇÃO

O efeito biológico do ácido linoleico conjugado (ALC) sobre seres vivos é muito controverso. Variações nas condições experimentais, incluindo o nível de ALC na dieta e o peso dos animais, podem contribuir para obter resultados tão divergentes. Essas divergências entre os efeitos do ALC sobre a insulina e metabolismo de glicose refletem diferentes conseqüências metabólicas quanto ao efeito antiobesidade do isômero *cis-9, trans-11* e *trans-10, cis-12* em diferentes modelos animais (CHOI *et al.*, 2004).

Segundo McLEOD *et al.* (2004), em modelos animais, o ALC tem mostrado vários efeitos sobre o perfil lipídico do plasma. Triglicérides (TAG) e colesterol plasmáticos foram reduzidos quando uma mistura de isômeros de ALC foi adicionada em estudo com coelhos com aterosclerose (LEE *et al.*, 1994).

Em estudo com hamsters alimentados com dietas suplementadas com o isômero *cis-9, trans-11* ou *trans-10, cis-12* ou a mistura de ambos em igual proporção, observou-se que os animais que receberam dieta com a mistura e somente o isômero *trans-10, cis-12* apresentaram diminuição de lipoproteína de baixa densidade (LDL) e lipoproteína de alta densidade (HDL), mas, aumentou a concentração de lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL). Enquanto que o isômero *cis-9, trans-11* sozinho não apresentou nenhum efeito sobre os níveis lipídicos no plasma (DECKERE *et al.*, 1999).

Este experimento teve como objetivo avaliar o efeito do ALC sobre o perfil lipídico sérico e glicemia quando adicionado à dieta de cães em crescimento.

2. MATERIAL E MÉTODO

Este experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da PUCPR, sob registro no CEPA/PUCPR nº 23.

2.1 LOCAL E PERÍODO DO EXPERIMENTO

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Estudos de Nutrição Canina, do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Paraná. O período para realização da fase experimental da pesquisa foi de 11 meses. Sendo os dois primeiros meses destinados à adaptação dos cães ao alimento, instalações e manejo, e realização de exames físico, hematológico, bioquímico e coproparasitológico em cada cão, para atestar sua higidez.

2.2 GRUPO EXPERIMENTAL

Foram utilizados 16 cães da raça Beagle, durante o período de crescimento, dos sete aos 17 meses de idade; sendo dez fêmeas e seis machos. Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos: controle e ALC.

2.3 DIETAS EXPERIMENTAIS

A água foi fornecida *ad libitum*. As dietas experimentais eram isonutritivas (TABELA 4.1), diferindo apenas quanto à inclusão de ALC. O produto⁵ usado neste experimento possui uma mistura predominante de dois isômeros (*cis*-9, *trans*-11 e *trans*-10, *cis*-12). As duas dietas possuíam a mesma quantidade de lipídeos, tomando-se o cuidado de acrescentar a dieta controle uma quantidade de lipídeos na forma de gordura de frango equivalente à quantidade de ALC adicionada (0,3%), para que as dietas fossem isoenergéticas.

TABELA 4.1 - Ingredientes usados na formulação das dietas controle e ALC.

| Ingrediente | Controle (kg/t) | ALC(kg/t) |
|-----------------------------|------------------------|------------------|
| Farelo de Milho | 50 | 50 |
| Quirera de Milho | 100 | 100 |
| Farelo de Soja | 70 | 70 |
| Quirera de Arroz | 320 | 320 |
| Levedura de Cerveja | 10 | 10 |
| Farinha de Peixe | 45 | 45 |
| Farinha de Visceras de Aves | 320 | 320 |
| Óleo de Milho | 10 | 10 |
| Leite em Pó Integral | 9 | 9 |
| Sal Comum | 4,56 | 4,56 |
| Aroma de Alho | 0,04 | 0,04 |
| Vitamina C | 0,15 | 0,15 |
| Aroma de Leite em Pó | 5 | 5 |
| Anti-oxidante | 0,20 | 0,20 |
| Aroma de Leite | 0,25 | 0,25 |
| <i>Yucca</i> | 0,25 | 0,25 |
| Beterraba em Pó | 3 | 3 |
| Adsorvente de Micotoxinas | 0,50 | 0,50 |
| Premix Vitamínico / Mineral | 5 | 5 |
| Ovo em Pó | 8 | 8 |
| Plasma | 8 | 8 |
| Minerais Complexados | 0,5 | 0,5 |
| Extrato Levedura (MOS) | 1,0 | 1,0 |
| Óleo de aves | 30 | 25 |
| LUTA-CLA 60 | 0 | 5 |

⁵ LUTA-CLA 60 é um óleo líquido incolor, composto de 60% de éster de metil de ácido linoleico conjugado, com uma proporção de isômeros de 1:1 (*cis*-9, *trans*-11; *trans*-10, *cis*-12).

A alimentação durante todo o período experimental foi fornecida duas vezes ao dia, as 10 e 18 horas, a quantidade fornecida por animal foi calculada através da necessidade energética diária de manutenção, ajustada de acordo com a fase de crescimento e temperatura do ambiente.

2.4 ANÁLISE LABORATORIAL

Foram realizadas oito coletas de sangue durante o experimento, com intervalos de seis semanas. Sendo as coletas realizadas em jejum, através de venopunção jugular externa com seringa de 10ml e agulha 25x7. Cerca de 8ml de sangue foram destinados à obtenção de soro e 2ml para obtenção de plasma com o uso de EDTA a 10%.

As análises bioquímicas foram realizadas no Laboratório Clínico do Hospital Veterinário da UFPR, sendo realizadas no mesmo dia da coleta ou num tempo máximo de 72 horas após a coleta. Foram avaliados colesterol total, HDL, LDL, VLDL, TAG e glicose.

As amostras de soro e plasma foram armazenadas em eppendorf de 1ml, sendo separadas em no mínimo três alíquotas.

2.4.1 Glicemia⁶

A determinação quantitativa de glicose em soro foi realizada em três coletas de sangue, os cães estavam com 14½, 16 e 17 meses de idade. Foi usado o método enzimático-colorimétrico sem desproteinização.

2.4.2 Colesterol total ⁷e HDL ⁸

Nas primeiras seis coletas de sangue o colesterol total foi analisado no espectrofotometro Metrolab® 330, sendo as duas últimas coletas analisadas no aparelho Celm® SBA200. Foi usado o teste enzimático-colorimétrico com fator

⁶ Glicose Enzimática – In Vitro Diagnostica LTDA – Wiesbaden (Alemanha).

⁷ Colesterol Enzimático – In Vitro Diagnostica LTDA – Wiesbaden (Alemanha).

⁸ Colesterol HDL enzimático – In Vitro Diagnostica LTDA.

clareante de lipídeos para determinação quantitativa do colesterol total presente no soro.

Para a determinação da fração HDL do colesterol presente no soro foi usado o método enzimático-colorimétrico, sendo analisada somente nas últimas três coletas no espectrofotômetro Celm® SBA200.

2.4.3 TAG⁹, VLDL e LDL

A análise para determinação de TAG no soro foi realizada pelo método enzimático colorimétrico com fator clareante de lipídeos.

A concentração de LDL e VLDL obtém-se através da equação de Friedwald:

$$\text{Colesterol VLDL (mg/dl)} = \text{TAG} \div 5$$

$$\text{Colesterol LDL} = \text{colesterol total} - (\text{colesterol HDL} + \text{colesterol VLDL}).$$

2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O experimento seguiu um delineamento inteiramente ao acaso com parcela subdividida no tempo, sendo cada tratamento com oito repetições. Inicialmente as variâncias dos tratamentos foram avaliadas quanto a sua homogeneidade pelo teste de Bartlett para posteriormente realizar a análise de variância. Quando os resultados revelaram existir diferenças estatisticamente significantes entre médias de tratamentos, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey no nível de 5% de probabilidade.

⁹ TAG Líquidcolor Mono – In Vitro Diagnostica LTDA – Wiesbaden (Alemanha).

3. RESULTADOS

Na TABELA 4.2 podem ser observados as médias, desvio padrão, coeficiente de variação, valor de qui-quadrado e probabilidades para glicemia.

TABELA 4.2 - Nível de glicose (mg/dl) sérica para os grupos controle e ALC aos 14½ e 16 meses de idade.

| | Glicose (mg/dl) | |
|-----------|-------------------------|------------------------|
| | Idade (meses) | |
| | 14½ | 16 |
| Controle | 89,9 ^a ±15,3 | 66,5 ^b ±8,5 |
| ALC | 75,9±17,0 | 65,7±3,9 |
| CV(%) | 20,80 | 9,70 |
| χ^2 | 0,91 ^{ns} | |
| | Probabilidades | |
| Dieta (D) | 0,0125 | |
| Idade (I) | 0,0001 | |
| D*I | 0,0233 | |

^{a,b} - Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na linha diferem entre si pelo teste Tukey (p<0,05).

CV – Coeficiente de Variação

χ^2 – Qui-quadrado; ^{ns} – não significativo.

Para TAG, os dados tiveram que ser transformados (logaritmo) para posterior análise de variância.

Nas TABELAS 4.3, 4.4, 4.5 e 4.6 verificam-se as médias e desvio padrão do colesterol total, TAG, HDL e LDL, respectivamente.

TABELA 4.3 - Concentração sérica de colesterol total (mg/dl) nos grupos controle e ALC dos cães da raça Beagle durante a fase de crescimento.

| | Colesterol Total (mg/dl) | | | | | | |
|----------------|----------------------------|----------------------------|--------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|--------------------------|
| | Idade (meses) | | | | | | |
| | 7 | 8½ | 10 | 11½ | 13 | 14½ | 16 |
| Controle | 190,1 ^{a,b} ±47,1 | 116,7 ^{b,c} ±36,9 | 82,6 ^c ±56,8 | 123,9 ^{b,c} ±55,1 | 168,8 ^{a,b} ±18,5 | 200,3 ^a ±79,9 | 221,1 ^a ±38,8 |
| ALC | 175,8 ^{a,b} ±14,7 | 123,3 ^b ±30,6 | 112,4 ^b ±67,9 | 120,3 ^b ±63,9 | 182,1 ^{a,b} ±40,1 | 176,1 ^{a,b} ±59,0 | 233,1 ^a ±52,4 |
| CV(%) | 18,84 | 27,44 | 64,04 | 47,25 | 17,64 | 36,66 | 19,79 |
| χ^2 | | | | 18,19 ^{ns} | | | |
| Probabilidades | | | | | | | |
| Dieta (D) | - | | | | | | |
| Idade (I) | 0,0001 | | | | | | |
| D*I | - | | | | | | |

^{a,b,c} - Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na linha diferem entre si pelo teste Tukey (p<0,05).

CV – Coeficiente de Variação

χ^2 – Qui-quadrado;

^{ns} – não significativo.

TABELA 4.4 - Concentração sérica de TAG (mg/dl) nos grupos controle e ALC dos cães da raça Beagle durante a fase de crescimento.

| | TAG (mg/dl) | | | | | | |
|----------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|-------------------------|
| | Idade (meses) | | | | | | |
| | 7 | 8½ | 10 | 11½ | 13 | 14½ | 16 |
| Controle | 128,6 ^a ±75,3 | 70,7 ^{a,b} ±13,0 | 110,8 ^a ±70,5 | 55,9 ^b ±48,9 | 98,7 ^{a,b} ±78,7 | 67,5 ^{a,b} ±19,4 | 44,9 ^b ±18,5 |
| ALC | 104,0 ^a ±48,4 | 60,3 ^{a,b} ±9,2 | 84,3 ^{a,b} ±29,2 | 61,6 ^{a,b} ±32,0 | 90,5 ^{a,b} ±41,1 | 50,1 ^{a,b} ±10,0 | 48,4 ^b ±12,1 |
| CV(%) | 53,67 | 18,54 | 55,24 | 68,17 | 64,23 | 29,61 | 32,63 |
| χ^2 | | | | 16,51* | | | |
| Probabilidades | | | | | | | |
| Dieta (D) | - | | | | | | |
| Idade (I) | 0,0001 | | | | | | |
| D*I | - | | | | | | |

^{a,b} - Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na linha diferem entre si pelo teste Tukey (p<0,05).

CV – Coeficiente de Variação

χ^2 – Qui-quadrado; * – significativo a 5%

TABELA 4.5 – Concentração de HDL (mg/dl) nos grupos controle e ALC dos cães da raça Beagle durante a fase de crescimento.

| | HDL (mg/dl) | | | |
|-----------|---------------------------|-------------------------|---------------------------|----------------------------|
| | Idade (meses) | | | |
| | 11½ | 13 | 14½ | 16 |
| Controle | 94,7 ^{a,b} ±25,7 | 54,4 ^c ±15,2 | 60,9 ^{b,c} ±21,0 | 120,8 ^{a,A} ±38,7 |
| ALC | 90,4±24,0 | 57,0±18,0 | 72,9±14,4 | 73,7 ^B ±58,3 |
| CV(%) | 26,03 | 28,97 | 27,58 | 55,14 |
| χ^2 | 13,49 ^{ns} | | | |
| | Probabilidades | | | |
| Dieta (D) | 0,1540 | | | |
| Idade (I) | 0,0001 | | | |
| D*I | 0,0098 | | | |

^{a,b,c} - Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na linha diferem entre si pelo teste Tukey (p<0,05).

^{A, B} - Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na coluna diferem entre si a 5 % de significância segundo o Teste de Tukey.

CV – Coeficiente de Variação

χ^2 – Qui-quadrado

^{ns} – não significativo.

TABELA 4.6- Concentração de LDL (mg/dl) nos grupos controle e ALC dos cães da raça Beagle durante a fase de crescimento.

| | LDL (mg/dl) | | | |
|-----------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | Idade (meses) | | | |
| | 11½ | 13 | 14½ | 16 |
| Controle | 18,0 ^b ±42,0 | 94,7 ^a ±25,2 | 125,9 ^a ±67,5 | 91,3 ^a ±35,3 |
| ALC | 17,6 ^b ±47,9 | 106,9 ^a ±58,9 | 93,2 ^a ±61,4 | 149,7 ^a ±57,7 |
| CV (%) | 244,30 | 43,86 | 58,96 | 45,77 |
| χ^2 | 8,57 ^{ns} | | | |
| | Probabilidades | | | |
| Dieta (D) | - | | | |
| Idade (I) | 0,0001 | | | |
| D*I | 0,1197 | | | |

^{a,b} - Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na linha diferem entre si pelo teste Tukey (p<0,05).

CV – Coeficiente de Variação

χ^2 – Qui-quadrado

^{ns} – não significativo.

4. DISCUSSÃO

Neste experimento não foi observada diferença entre os grupos para glicemia, somente diferença estatística no grupo controle.

RISÉRUS *et al.* (2004) em estudo realizado com homens obesos, administraram por via oral diariamente uma cápsula contendo placebo ou 3g do isômero de ALC *cis-9, trans-11* por três meses. Este experimento demonstrou que o isômero *cis-9, trans-11* aumenta a resistência insulínica quando comparada com o grupo de homens obesos que receberam placebo, no entanto não foi observada diferença significativa entre os grupos para concentração sanguínea de glicose e insulina.

Foi conduzido um experimento com humanos obesos que receberam manteiga enriquecida com ALC (4,2g de ALC /100g de manteiga) ou para grupo controle (0,38g de ALC/ 100g de manteiga), foram avaliados concentração de lipoproteínas plasmáticas e composição corporal. Não foi observado efeito na sensibilidade insulínica e sobre fatores inflamatórios (LAMARCHE e DESROCHES, 2004; DESROCHES *et al.*, 2005).

CHOI *et al.* (2004), usando ratos alimentados com dieta rica em gordura suplementada com mistura de isômeros de ALC ou apenas o isômero *cis-9, trans-11* ou *trans-10, cis-12* a 1% por oito semanas observou que todos os grupos que receberam ALC houve diminuição da resistência insulínica, por um aumento da oxidação lipídica e gasto energético através de estímulo da acil-coA oxidase e da proteína desacopladora 2 (UCP-2) no fígado e/ou músculo esquelético. Também observou que os grupos que receberam ALC tenderam a apresentar menores concentrações de glicemia quando comparados ao grupo controle. Significativa diminuição foi observada na sétima semana para o grupo que recebeu o isômero *cis-9,trans-11* e, para o grupo que recebeu o isômero *trans-10, cis-12* na quinta e sétima semana quando comparados ao grupo controle.

Segundo TAYLOR e ZAHRADKA (2004), em estudo usando ratos alimentados com ALC (1,5%) por 14 dias, houve redução de tecido adiposo, glicemia, insulina, ácidos graxos livres e, houve melhora da tolerância à glicose e sensibilidade insulínica do músculo esquelético quando comparado com o grupo controle.

Neste experimento não foram observadas diferenças significativas entre os grupos controle e ALC para concentração sérica de colesterol total, HDL, LDL, VLDL e TAG.

Os lipídeos são transportados no sistema circulatório junto com proteínas, fosfolipídeos e carboidratos em várias formas, como quilomicrons, VLDL, LDL e HDL (AMINOT-GILCHRIST e ANDERSON, 2004).

Não foi observada significativa diminuição para concentração sérica de TAG e perfil lipídico usando somente o isômero *cis-9, trans-11* (GAVINO *et al.*, 2000; CHOI *et al.*, 2004; RISÉRUS *et al.*, 2004) ou mistura de isômeros (MEDEIROS, 2002; CHOI *et al.*, 2004).

ROMSOS *et al.* (1976), com o propósito de estudar os efeitos do nível de carboidratos, gordura e proteínas na dieta durante a fase de crescimento, avaliaram a composição corporal e níveis séricos de alguns metabólitos em cães da raça Beagle até oito meses de idade. A concentração de colesterol plasmático foi influenciada pela dieta, sendo que os níveis tenderam a aumentar em cães que consumiram dietas com altos teores de gordura e colesterol.

CAMPBELL *et al.* (1995) usando 20 cães da raça Pointer em fase de crescimento; avaliaram o efeito do tipo de gordura e proteína contida na dieta sobre as concentrações sérica e dérmica de ácidos graxos, bem como nível sanguíneo de colesterol total. Foi observada diferença significativa entre os tratamentos para concentração de ácidos graxos da pele. Sendo os cães que receberam como fonte de energia óleo de soja apresentaram maiores níveis de ácido linoleico e menores concentrações de ácido oléico quando comparados aos cães que receberam óleo de frango como fonte de gordura. A concentração de colesterol total sérica tendeu a ser menor nos cães que receberam óleo de soja. Esse estudo sugere que a fonte de gordura da dieta influencia as concentrações sérica e cutânea de ácidos graxos e níveis de colesterol sanguíneo em cães.

COUSINS *et al.* (2004), em experimento com o objetivo de determinar o perfil toxicológico do ALC, usaram cães da raça Beagle em crescimento por seis meses. O ALC foi adicionado na dieta nas concentrações 0, 5, 15 e 50 ppm. A

quantidade de ração fornecida foi de 400g. Não foram observados efeitos dos tratamentos sobre os seguintes parâmetros: hematologia, enzimas, urina, hormônios e peso, exceto para fêmeas que receberam 50ppm de ALC que tiveram um aumento na concentração sérica de proteína total e colesterol e, o nível de uréia sanguínea foi menor quando comparado ao grupo controle. Esse experimento, visando avaliar efeitos adversos em cães, mostrou que não houve efeito maléfico com a adição de ALC para machos com 50ppm e para fêmeas com até 15ppm.

Os cães em crescimento apresentaram muitas vezes concentrações de metabólitos fora dos limites estabelecidos por valores de referência para cães adultos; apresentaram maior concentração de glicose, plaquetas e fosfatase alcalina quando comparado com grupo de cães idosos (11 anos de idade). No entanto, os cães idosos apresentaram maiores concentrações de colesterol que filhotes. Embora valores de referência para hematologia e metabólitos séricos tenham sido determinados para cães adultos, esses limites não podem ser considerados adequados para avaliar cães em crescimento ou idosos. Muitas pesquisas têm demonstrado os efeitos da idade do cão sobre a hematologia e concentrações séricas de metabólitos, mas poucos têm monitorado alterações que ocorrem no primeiro ano de vida de um cão. Logo, o efeito da idade sobre nível sanguíneo de metabólitos em cães é freqüentemente ignorado (SWANSON *et al.*, 2004).

Usando ALC em coelhos (LEE *et al.*, 1994) e em hamsters (NICOLOSI *et al.*, 1997) foi observado diminuição de LDL. LEE *et al.* (1994) também observaram redução de colesterol total e TAG. No entanto, MUNDAY *et al.*, (1999) em estudo com camundongos observaram diminuição do nível de TAG, porém sem alteração sobre o nível de colesterol total sérico.

Segundo DESROCHES *et al.* (2005), conduzindo um experimento com humanos obesos que receberam manteiga enriquecida com ALC observaram redução na concentração plasmática de colesterol total e de HDL.

AMINOT-GILCHRIST e ANDERSON (2004) sugeriram que o ALC poderia reduzir partículas de LDL por inibição da secreção da apolipoproteína B ou por intensificar a retirada de LDL do sistema circulatório aumentando a atividade de receptores de LDL. Mais recentemente foi encontrado que dietas contendo ALC aumentam a excreção de ésteres neutros. Com base nesse achado foi sugerido que o efeito de reduzir nível colesterol sérico do ALC é mediado em parte pelo efeito inibitório sobre a absorção de colesterol, através da diminuição da atividade da esterol-*O*- aciltransferase.

Em modelos experimentais com hipercolesterolemia, o ALC tem demonstrado produzir uma diminuição dos níveis plasmáticos de colesterol, com respostas similares as que se obtém com os ácidos graxos ômega-3. No entanto este mecanismo é ainda desconhecido, como também a projeção nutricional real que tem esses resultados experimentais (SANHUEZA *et al.*, 2002).

O possível efeito de redução de gordura corporal com a suplementação de ALC, sem evidência de uma associada melhora no perfil metabólico, deve ser discutido com cautela, devido ao ALC causar uma aparente diminuição do colesterol HDL e um aumento da peroxidação lipídica (RISÉRUS *et al.*, 2004).

Efeitos metabólicos do ALC nos animais são divergentes, o que é parcialmente explicado pelas propriedades específicas de alguns isômeros de ALC, bem como, as diferenças fenotípicas entre as pesquisas (RISÉRUS *et al.*, 2004).

5. CONCLUSÕES

- A adição de ALC (0,3%) na dieta de cães da raça Beagle em crescimento não afetou a glicemia nem o perfil lipídico sanguíneo, quanto a colesterol total, triglicérides, HDL, LDL e VLDL.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMINOT-GILCHRIST, D. V.; ANDERSON, H. D. I. Insulin resistance-associated cardiovascular disease: potencial benefits of conjugated linoleic acid. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 79S, 1159S-1163S, 2004.

CAMPBELL, K. L.; CZARNECKI-MAULDEN, G. L.; SCHAEFFER, D. J. Effects of animal and soy fats and proteins in the diet on fatty acid concentrations in the serum and skin of dogs. **American Journal Veterinary Research**, v. 56, n. 11, p. 1465-1469, 1995.

CHOI, J. S.; JUNG, M. H.; PARK, H. S.; SONG, J. Effect of conjugated linoleic acid isomers on insulin resistance and mRNA levels of genes regulating energy metabolism in high-fat-fed rats. **Nutrition**, v. 20, p. 1008-1017, 2004.

COUSINS, B.W.; KELLER, T.; PELLOWAND, J.; SCHROEDER, G. Effect of conjugated linoleic acid on growth and nutrient digestibility in dogs. *In: Proceedings of the Nestlé-Purina Nutrition Forum*, St. Louis: Nestlé-Purina, 2004.

DECKERE, E.A.M.; VAN AMELSVOORT, J.M.M.; MCNEILL, G.P.; JONES, P. Effects of conjugated linoleic acid (CLA) isomers on lipid levels and peroxisome proliferation in the hamster. **British Journal of Nutrition**, v. 82, n. 4, p. 309-317, 1999.

DESROCHES, S.; CHOUINARD, P. Y.; GALIBOIS, I.; CORNEAU, L.; DELISLE, J.; LAMARCHE, B.; COUTURE, P.; BERGERON, N. Lack of effect of dietary conjugated linoleic acids naturally incorporated into butter on the lipid profile and body composition of overweight and obese men. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 82, n. 2, p. 309-319, 2005.

GAVINO, V. C.; GAVINO, G.; LEBLANC, M. J.; TUCHWEBER, B. An Isomeric Mixture of Conjugated Linoleic Acids but Not Pure *cis*-9, *trans*-11-Octadecadienoic Acid Affects Body Weight Gain and Plasma Lipids in Hamsters. **Journal of Nutrition**. v. 130, p. 27-29, 2000.

LAMARCHE, B.; DESROCHES, S. Metabolic syndrome and effects of conjugated linoleic acid in obesity and lipoprotein disorders: the Québec experience. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, n. 6, p. 1149S-1152S, 2004.

LEE, K.N.; KRITCHEVSKY, D.; PARIZA, M. W. Conjugated linoleic acid and atherosclerosis in rabbits. **Atherosclerosis**. v. 108, n. 1, p. 19-25, 1994.

McLEOD, R. S.; LEBLANC, A. M.; LANGILLE, M. A.; MITCHELL, P. L.; CURRIE, D. L. Conjugated linoleic acids, atherosclerosis, and hepatic very-low-density lipoprotein metabolism. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 19, n. 6, p.1169S-1174S, 2004.

MEDEIROS, S. R. Ácido linoleico conjugado: teores nos alimentos e seu uso no aumento da produção de leite com maior teor de proteína e perfil de AGs modificado. Piracicaba, 2002. 114f. Trabalho de pós-graduação (Doutorado em Agronomia) – Setor de Ciência Animal e Pastagens, Universidade de São Paulo. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis>> Acesso em: 8 jul. 2003.

MUNDAY, J. S.; THOMPSON, K. G.; JAMES, K. A. Dietary conjugated linoleic acids promote fatty streak formation in the C57BL/6 mouse atherosclerosis model. **British Journal of Nutrition**, v. 8, p. 251-255, 1999.

NICOLOSI, R J; ROGERS, E J; KRITCHEVSKY D, SCIEMECA, J. A.; HUTH, P J. Dietary conjugated linoleic acid reduces plasma lipoprotein and early aortic atherosclerosis in hypercholesterolaemic hamsters. **Artery**, v.22, p.266-277, 1997.

RISÉRUS, U.; VESSBY, B.; ÄRNLÖV, J.; BASU, S. Effects of *cis-9,trans-11* conjugated linoleic acid supplementation on insulin sensitivity, lipid peroxidation, and proinflammatory markers in obese men. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 80, n. 2, p. 279-283, 2004.

ROMSOS, D. R.; BELO, P. S.; BENNINK, M. R.; BERGEN, W. G.; LEVEILLE, G. A. Effects of dietary carbohydrate, fat and protein on growth, body composition and blood metabolite levels in the dog. **Journal of Nutrition**, v. 106, n. 10, p. 1452-1464, 1976.

SANHUEZA, J. C.; NIETO, S. K.; VALENZUELA, A. B. Acido linoleico conjugado: un acido graso con isomeria trans potencialmente beneficioso. **Revista Chilena de Nutrición**, v. 29, n. 2, p. 98-105, 2002.

SWANSON, K. S.; KUZMUK, K. N.; SCHOOK, L. B.; FAHEY Jr, G. C. Diet affects nutrient digestibility, hematology, and serum chemistry of senior and weanling dogs. **Journal Animal Science**, v. 82, p. 1713-1724, 2004.

TAYLOR, C. G.; ZAHRADKA, P. Dietary conjugated linoleic acid and insulin sensitivity and resistance in rodent models. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, n. 6, p. 1164S - 1168S, 2004.

CAPÍTULO 5 – EFEITO DO ALC SOBRE ÍNDICE DE PROLIFERAÇÃO DE LINFÓCITOS E LACTATO EM CÃES DA RAÇA BEAGLE

RESUMO – Pesquisas recentes demonstram que ácido linoleico conjugado (ALC) afeta a composição corporal, o metabolismo lipídico, a reação inflamatória, a sensibilidade insulínica, o processo de carcinogênese e a função imune. Logo, este estudo teve como objetivo avaliar o efeito do ALC quando adicionado na dieta de cães a 0,3%. Foram usados 16 cães da raça Beagle, divididos aleatoriamente em dois grupos. Os tratamentos diferiram apenas quanto à inclusão de ALC. Buscando um perfil isonutritivo, foi adicionado a dieta controle óleo de frango enquanto que a dieta teste foi suplementada com ALC. Aos 17 meses de idade dos cães foi analisado o índice de proliferação de linfócitos, concentração de lactato sérico, glicose, triglicérides, colesterol total, HDL e LDL após exercício. A concentração de lactato sanguíneo do tratamento teste (ALC) foi maior que o grupo controle ($p < 0,05$) após a realização do exercício físico, possivelmente devido ao aumento do metabolismo celular que o ALC parece exercer.

PALAVRAS-CHAVE: atividade física, CLA, glicose, imunidade, lactato

1. INTRODUÇÃO

O ácido linoleico conjugado (ALC) é associado a muitos efeitos benéficos, como estimulação da ação de insulina, redução de gordura corporal, modulação do sistema imune, diminuição de colesterol sérico, propriedade anticarcinogênica, promotor de crescimento e uso para manutenção de pele e pêlos saudáveis. Alguns estudos têm demonstrado a existência de efeitos colaterais em modelos animais, sendo necessário mais pesquisas sobre este composto e suas diversas ações sobre o organismo (ROCHE *et al.*, 2001).

As ações sobre o sistema imune atribuída ao ALC têm estreita relação com seu efeito de prevenção no desenvolvimento de certas neoplasias (SANHUEZA *et al.*, 2002).

O mecanismo de ação do ALC ainda não foi claramente compreendido, além de faltarem estudos para que se possa utilizar este nutriente com maior segurança na dieta de animais (PARIZA *et al.*, 2000). Atualmente, no mercado podem ser encontrados vários tipos de dietas para cães, de acordo com idade, enfermidades, sexo, raça e atividade que o cão exerce. Como exemplo de atividade, hoje se destacam as competições de pastoreio e provas de agilidade (“agility”) cada vez mais freqüentes (GOTTLIEB, 2005). Sendo que, uma correlação da concentração sérica de lactato e intensidade do exercício físico, como o existente e aplicado para humanos e eqüinos, seria uma característica interessante para avaliar os cães que exercem essas atividades.

Logo, este experimento teve como objetivo avaliar o índice de proliferação de linfócitos, glicose, triglicérides, colesterol total, HDL e LDL e, produção de lactato sérico após exercício em cães, alimentados com uma dieta contendo ALC.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Este experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da PUCPR, sob registro no CEPA/PUCPR nº 23.

2.1 LOCAL, GRUPO EXPERIMENTAL E PERÍODO DO EXPERIMENTO

O experimento foi conduzido nas instalações do Laboratório de Estudos de Nutrição Canina e Laboratório de Fisiologia da Universidade Federal do Paraná – Curitiba. Foram avaliados nesta pesquisa 16 cães da raça Beagle, ao total, dez fêmeas e seis machos; divididos aleatoriamente em dois tratamentos.

Os cães foram alimentados dos seis aos 17 meses de idade com dietas isonutritivas e isoenergéticas, diferindo apenas quanto à inclusão de ALC (0,3%). O ALC utilizado neste experimento constitui-se de uma mistura predominantemente de dois isômeros, *cis*-9, *trans*-11 e *trans*-10, *cis*-12. Este ingrediente¹⁰ foi adicionado somente ao alimento do grupo ALC.

A água foi fornecida *ad libitum*. Enquanto que a alimentação durante todo o período experimental foi fornecida duas vezes ao dia, as 10 e 18 horas, a quantidade fornecida por animal foi calculada através da necessidade energética diária de manutenção, calculada através da equação $132 \times \text{peso corporal}^{0,75}$ (NRC, 1974), ajustada de acordo com a fase de crescimento e temperatura do ambiente.

2.2 ANÁLISE LABORATORIAL

Para todas as análises, a coleta de sangue foi realizada através de punção da veia jugular, com os animais em jejum.

¹⁰ LUTA-CLA 60 é um óleo líquido incolor, composto de 60% de éster de metil de ácido linoleico conjugado, com uma proporção de isômeros de 1:1 (*cis*-9, *trans*-11; *trans*-10, *cis*-12).

2.2.1 Índice de proliferação de linfócitos

Esta etapa do experimento foi realizada com os cães aos 17 meses de idade. O sangue (cerca de 10ml) dos cães foi coletado por punção da jugular e armazenado em tubos de ensaio previamente heparinizados e, mantido sob refrigeração. Após a coleta, o sangue foi submetido ao seguinte protocolo:

- a. centrifugar o sangue a 1200rpm por 10 minutos a 4°C;
- b. aliquotar o plasma;
- c. transferir o restante para um tubo falcon de 50ml;
- d. colocar o mesmo volume de PBS;
- e. preparar os tubos de vidro (15ml) com 3ml de HISTOPAQUE®-1077;
- f. acrescentar 8 ml de sangue diluído com PBS em cima do HISTOPAQUE®-1077;
- g. tampar com parafilm;
- h. centrifugar a 1200rpm durante 30 minutos a 12°C;
- i. desprezar a fase superior e transferir a camada intermediária para outro tubo – juntar duas camadas intermediárias em cada tubo (volume 2ml) – Linfócitos e Monócitos;
- j. a camada constituída de hemácias e células polimorfonucleares é transferida para um falcon de 50ml.

Cultivo dos linfócitos

Uma vez isolados os linfócitos, 2×10^5 células por poço, foram cultivados em meio de cultura RPMI-1640 enriquecido com 10% de soro fetal bovino e antibióticos (penicilina 10.000U e estreptomicina 10mg/l), em placas de 96 poços (volume final de 200µl), a 37° C em atmosfera de 95% ar / 05% CO₂, por 48 horas. Os linfócitos foram estimulados com 20µl/poço de solução hidroalcoólica dos mitógenos Concanavalina A (Con A), estimulador da proliferação de linfócitos T e 20µl de uma solução contendo (2-¹⁴C)-Timidina (0,02µCi/poço) e

as células foram cultivadas por um período adicional de 18 horas, sob as mesmas condições descritas anteriormente.

Após este período, foram coletadas automaticamente em coletor múltiplo (Skatron Combi Multiple Cell Harvester, UK) em papéis filtro nº 11731 (Skatron Combi - UK). Neste processo não há necessidade de processos extrativos preparatórios para obtenção de DNA celular. Os discos de papéis contendo a radioatividade incorporada no DNA foram transferidos para *vials* contendo 1ml de líquido de cintilação e levados para mensuração em contador Beckman LS 6500. Os resultados foram expressos em índice de proliferação, calculado pela relação: valor da proliferação com estímulo/valor da proliferação sem estímulo.

2.2.2 Concentração de lactato sérico

O exercício físico constituiu-se corrida sobre esteira mecânica por 17 minutos com uma velocidade máxima de 4,5Km/hr. Os cães antes de serem submetidos a esse exercício, passaram por um período de adaptação, 2 minutos e baixa velocidade, para acostumarem-se com o barulho e andarem corretamente sobre a esteira. Essa fase de adaptação foi realizada três vezes, uma por semana, com todos os cães.

O ensaio para determinação do lactato sanguíneo e exame físico foi realizado aos 17 meses de idade dos cães. Foram aferidos, antes e logo após a realização do exercício, a temperatura, o tempo de preenchimento capilar, frequência respiratória e frequência cardíaca. Logo após o exercício foi coletado sangue para análise de concentração de lactato sérico através de um teste bioquímico¹¹.

A coleta de sangue para análise de lactato através do método enzimático foi realizada através de punção da veia jugular, com os animais em jejum e logo após o exercício físico. Esta análise foi realizada em 14 cães.

¹¹ Lactato – Labtest S.A.

2.2.3 Concentração sanguínea de glicose¹², triglicérides¹³, colesterol total¹⁴, HDL¹⁵ e LDL

A concentração de LDL obteve-se através da equação de Friedwald:

$$\text{Colesterol VLDL (mg/dl)} = \text{TAG} \div 5$$

$$\text{Colesterol LDL} = \text{colesterol total} - (\text{colesterol HDL} + \text{colesterol VLDL}).$$

2.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para todas as variáveis foi adotado o delineamento inteiramente casualizado com oito repetições, exceto para lactato com sete repetições.

Os resultados foram submetidos à análise de variância. Inicialmente as variâncias dos tratamentos foram avaliadas quanto a sua homogeneidade pelo teste de Bartlett. As variáveis cujas variâncias mostraram-se homogêneas tiveram as médias dos tratamentos testadas por meio do teste de T.

3. RESULTADOS

Na TABELA 5.1 são apresentados os valores de coeficiente de variação, qui-quadrado referente ao teste de Bartlett, as médias e desvio padrão dos grupos controle e teste e o valor de probabilidade.

Os resultados obtidos para concentração de lactato sanguíneo podem ser observados na TABELA 5.2. Na TABELA 5.3 são apresentados às médias das variações obtidas para temperatura, tempo de preenchimento capilar, frequência respiratória e cardíaca.

¹² Glicose Enzimática – In Vitro Diagnostica LTDA – Wiesbaden (Alemanha).

¹³ TAG Liquicolor Mono – In Vitro Diagnostica LTDA – Wiesbaden (Alemanha).

¹⁴ Colesterol Enzimático – In Vitro Diagnostica LTDA – Wiesbaden (Alemanha).

¹⁵ Colesterol HDL enzimático – In Vitro Diagnostica LTDA.

TABELA 5.1 - Índice de proliferação de linfócitos dos cães da raça Beagle com 17 meses de idade.

| | Índice de proliferação de linfócitos |
|----------|--------------------------------------|
| Controle | 3,05±1,98 |
| ALC | 4,09±2,31 |
| CV(%) | 53,91 |
| χ^2 | 0,15 ^{ns} |
| <i>p</i> | 0,3155 |

CV – Coeficiente de variação

 χ^2 – Qui-quadrado^{ns} – não significativo*p* – Valor de probabilidade.**TABELA 5.2 – Concentração de lactato sanguíneo (mmol/l) de cães da raça Beagle dos grupos controle e ALC após o exercício.**

| | Lactato sérico (mmol/l) |
|----------|-------------------------|
| Controle | 0,54 ^b ±0,16 |
| ALC | 0,87 ^a ±0,32 |
| CV(%) | 42,09 |
| χ^2 | 2,06 ^{ns} |
| <i>p</i> | 0,0380 |

CV – Coeficiente de variação

 χ^2 – Qui-quadrado^{ns} – não significativo*p* – Valor de probabilidade^{a,b} - Médias seguidas de letras minúsculas diferentes diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$).**TABELA 5.3 - Variações obtidas (depois- antes do exercício) de temperatura, TPC, FR e FC entre os tratamentos controle e ALC.**

| Tratamento | Δ Temperatura (°C) | Δ TPC (") | Δ FR (rpm) | Δ FC (bpm) |
|------------|---------------------------|------------------|-------------------|-------------------|
| Controle | 1,04 | -1,00 | 8,50 | 25,50 |
| ALC | 0,75 | -0,94 | 13,00 | 9,25 |
| CV (%) | 54,51 | 12,90 | 211,57 | 146,01 |
| <i>p</i> | 0,2450 | 0,3343 | 0,7065 | 0,2108 |

 Δ – diferença entre valores obtidos (depois – antes do exercício)

TPC – Tempo de preenchimento capilar, obtido em segundos

FR – Frequência respiratória (movimentos respiratórios por minuto)

FC – Frequência cardíaca (batimentos cardíacos por minuto)

CV – Coeficiente de variação

p – Valor de Probabilidade

Na TABELA 5.4 são apresentados às médias e desvios padrões para colesterol total, triglicérides, HDL, LDL e glicose.

TABELA 5.4 - Concentração sanguínea de colesterol total, triglicérides, HDL, LDL e glicose dos tratamentos controle e ALC de cães da raça Beagle aos 17 meses de idade após o exercício.

| | Colesterol Total (mg/dl) | Triglicérides (mg/dl) | HDL (mg/dl) | LDL (mg/dl) | Glicose (mg/dl) |
|----------|-----------------------------|--------------------------|----------------|----------------|--------------------|
| Controle | 269,28±139,00 | 68,18±35,24 | 53,27±31,29 | 202,37±123,80 | 100,98±10,62 |
| ALC | 185,55±58,65 | 56,58±20,25 | 48,65±35,61 | 125,58±79,17 | 107,67±23,02 |
| <i>p</i> | 0,1388 | 0,4329 | 0,7868 | 0,1616 | 0,4680 |
| CV (%) | 49,15 | 45,54 | 63,71 | 65,82 | 16,93 |

4. DISCUSSÃO

Neste experimento não foi observada diferença entre os grupos para índice de proliferação de linfócitos. Segundo KELLEY *et al.* (2000) em contraste com pesquisas realizadas em modelos animais, a suplementação de ALC em mulheres saudáveis não alterou nenhum índice imune estudado. Isso sugere que a suplementação de ALC em mulheres saudáveis por pouco tempo não acrescenta benefícios ao sistema imune.

Segundo BASSAGANYA-RIERA *et al.*, (2001), usando suínos alimentados com dietas contendo 0; 0,67; 1,33 ou 2% de ALC, não houve diferença significativa no perfil de linfócitos até 42 dias após a inclusão do ALC na dieta. Entretanto após 42 dias, o ALC induziu um linear aumento na percentagem de linfócitos. Esse aumento de células brancas poderia ser atribuído a um aumento total no número de linfócitos, principalmente células CD8⁺.

Estudos *in vitro* usando células do sistema imune e *in vivo* demonstraram que o ALC, modula a função imune (O' SHEA *et al.*, 2004).

Estudos similares têm demonstrado, em uma relação dose dependente, que o aumento de ALC aumenta o nível de linfócitos no baço de ratos e a secreção de IgG e IgM por parte dessas células (SANHUEZA *et al.*, 2002).

SUGANO *et al.* (1999) em experimento com camundongos usando ALC (0,3gALC/100g ou 0,9gALC/100g da dieta) observaram um aumento da produção de interleucina (IL) - 2, sugerindo um aumento das habilidades proliferativas dos linfócitos.

No entanto, em outro experimento, o ALC inibiu a produção de IL-2 pelos linfócitos e a atividade fagocítica dos macrófagos. Nesse mesmo experimento, foi demonstrado que em combinação o ALC com β -caroteno potencializam a proliferação de linfócitos estimulada pela adição da solução mitógena (Con A) (CHEW *et al.*, 1997).

Num experimento com dezessete mulheres com idades entre 20 e 41 anos, as quais receberam por 30 dias uma dieta base (19, 30 e 51% de energia oriunda de proteína, gordura e carboidrato, respectivamente). Após esse período receberam suplementação de ALC (mistura de quatro isômeros ao total 3,9g/dia) por 63 dias. As análises para testar resposta imune foram realizadas semanalmente, exceto para titulação de anticorpo. No 65º dia, as pessoas foram vacinadas para Influenza, sendo realizada a titulação de anticorpos séricos para Influenza no 65º e 92º dia. Nenhuma análise demonstrou efeito do ALC sobre o sistema imune. Contagem de células brancas no sangue, granulócitos, monócitos, linfócitos, índice de proliferação de linfócitos em resposta a fitoemaglutininas e títulos de anticorpos para Influenza não foram alterados durante o experimento em nenhum grupo (KELLEY *et al.*, 2000).

Em outro experimento com humanos e uso de ALC, usando 71 homens entre 31 e 69 anos de idade por 12 semanas foi analisado o sistema imune. Os tratamentos consistiram de (1) mistura de 50% do isômero *cis*-9, *trans*-11 e 50% do isômero *trans*-10, *cis*-12 (cápsula com 1,7g/dia); (2) mistura de 80% de *cis*-9, *trans*-11 e 20% *trans*-10, *cis*-12 (cápsula com 1,6g/dia); e o grupo controle que recebeu óleo de girassol. Foi observada resposta específica para vacinação contra hepatite B mais rápida para o grupo que recebeu mistura de 50% do isômero *cis*-9, *trans*-11 e 50% do isômero *trans*-10, *cis*-12, quando comparado ao grupo controle ($p = 0,075$). Sendo que outros parâmetros como atividade de células

Natural Killer (NK), índice de proliferação, produção de TNF- α , IL-1, IL-6, IL-2, IL-4, e PGE₂, não foram afetados (ALBERS *et al.*, 2003).

Neste trabalho, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos para concentração sanguínea de colesterol total, triglicérides, HDL, LDL e glicose. No entanto, foi observada diferença significativa entre os grupo ALC e controle ($p < 0,05$) para concentração de lactato sanguíneo após exercício, neste estudo.

A evidência sobre o efeito específico do ALC sobre o músculo esquelético é limitada. É possível que o ALC aumente a taxa metabólica e gasto energético total (WEST *et al.*, 1998; OHNUKI *et al.*, 2001; PARIZA *et al.*, 2001; ROCHE *et al.*, 2001; TERPSTRA *et al.*, 2002).

No primeiro estágio a glicose é quebrada em duas moléculas de piruvato, esta transformação pode ocorrer em meio anaeróbico. Nesta fase dois pares de átomos de hidrogênio são liberados, formando a nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADH). A mitocôndria do músculo esquelético permanece impermeável ao NADH formado no citoplasma durante a glicólise (McARDLE *et al.*, 2001). Na segunda etapa, em meio aeróbico, o piruvato formado no citoplasma é transportado à mitocôndria, onde é convertido a acetil-CoA pela piruvato desidrogenase (PDH). Subseqüentemente, acetil-CoA entra no ciclo de Krebs (HABER *et al.*, 2001).

A PDH é a chave reguladora do metabolismo de carboidrato e lipídeos e pode afetar concentração de lactato muscular e sanguíneo durante o exercício (FERRANTE *et al.*, 1994).

A concentração de lactato no sangue depende da produção muscular e remoção pelo fígado e outros tecidos. A formação de lactato ocorre quando há acúmulo de NADH e piruvato no citoplasma da célula onde lactato desidrogenase está presente (POWERS e HOWLEY, 2001). Uma alta concentração de lactato sanguíneo pode ser resultado de vários fatores reguladores, incluindo a inibição da PDH por um aumento da oxidação de ácidos graxos (AGs) (FERRANTE *et al.*, 1994).

A captação de AGs pelo músculo é proporcional à concentração de AGs no plasma (POWERS e HOWLEY, 2001).

Segundo REYNOLDS *et al.*, (1994), muitos estudos tem demonstrado que o aumento de oxidação de AGs diminui a utilização de glicogênio muscular promovendo maior resistência ao exercício em cães. A duração do exercício que pode ser suportado por oxidação de carboidrato é muito mais limitada que o suportado pelo metabolismo lipídico.

Os AGs são transportados do citoplasma para a mitocôndria pela carnitina transferase, uma enzima associada à membrana mitocondrial (POWERS e HOWLEY, 2001). O ALC aumentou a atividade da enzima carnitina palmitoil transferase, acompanhado por uma maior β -oxidação de AGs tanto no músculo esquelético quanto no tecido adiposo (PARK *et al.*, 1997; RAHMAN *et al.*, 2001).

O estudo realizado por REYNOLDS *et al.* (1994) teve como objetivo determinar a eficiência da dieta para cães, testando dieta rica em lipídeos e outra dieta rica em carboidratos. Para o grupo de cães não treinados, as concentrações de AGs e triglicérides séricas foram maiores após o exercício no tratamento que recebeu dieta rica em lipídeos ($p < 0,02$). A concentração de glicose sanguínea não foi alterada. Em estudo similar usando ratos, foi observado maior resistência, maior consumo de oxigênio e diminuição da taxa de uso de glicogênio para o grupo que recebeu dieta rica em lipídeos (SIMI *et al.*, 1991).

OHNUKI *et al.* (2001) mensurando consumo de oxigênio em camundongos, demonstrou maior taxa metabólica em todos os grupos que receberam dieta suplementada com ALC quando comparado ao grupo controle. Sugerindo que o ALC diminui o acúmulo de gordura corporal e aumenta o metabolismo energético.

PARIZA *et al.* (2000) sugerem que a massa muscular pode ser preservada ou aumentada como resultado da indução do ALC sobre alterações na intensidade ou ação do fator de necrose tumoral- α e IL-1, citocinas que afetam profundamente o catabolismo muscular esquelético, bem como a função imune.

5. CONCLUSÕES

- Não foi observada diferença entre os grupos ALC e controle para índice de proliferação de linfócitos de cães da raça Beagle alimentados com ALC (0,3%).
- Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos para concentração sanguínea de colesterol total, triglicérides, HDL, LDL e glicose.
 - Foi observada diferença significativa entre os grupo ALC e controle para concentração de lactato sanguíneo após exercício.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERS, R.; Vander-WIELEN, R. P. J.; BRINK, E. J.; HENDRIKS, H. F. J.; DOROVSKA-TARAN, V. N.; MOHEDE, I. C. M. Effects of *cis*-9, *trans*-11 and *trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid (CLA) isomers on immune function in healthy men **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 57, n. 4, p. 595-603, 2003.

BASSAGANYA-RIERA, J.; HONTECILLAS-MAGARZO, R.; BREGENDAHL, K.; WANNEMUEHLER, M. J.; ZIMMERMAN, D. R. Effects of dietary conjugated linoleic acid in nursery pigs of dirty and clean environments on growth, empty body composition, and immune competence. **Journal Animal Science**, v. 79, p. 714–721, 2001.

CHEW, B.P.; WONG, T.S.; SHULTZ, T.D.; MAGNUSON, N.S. Effects of conjugated dienoic derivatives of linoleic acid and beta-carotene in modulating lymphocyte and macrophage function. **Anticancer Research**, 17: 1099-1106, 1997.

FERRANTE, P. L.; TAYLOR, L. E.; KRONFELD, D. S.; MEACHAM, T. N. Blood lactate concentration during exercise in horses fed a high-fat diet and administered sodium bicarbonate. **Journal of Nutrition**, v. 124, n. 12s, p. 2738S-2739S, 1994.

GOTTLIEB, S. Treinamento, obstáculos e comandos. Disponível em: <<http://www.agilitynews.com.br>> Acesso em: 30 de out. 2005.

HABER, Esther P., CURI, Rui, CARVALHO, Carla R.O. Angelo R. Carpinelli .
Secreção da insulina: efeito autócrino da insulina e modulação por ácidos graxos.
Arquivo Brasileiro de Endocrinologia & Metabologia, v. 45, n. 3, p.219-227,
2001.

KELLEY, D. S.; TAYLOR, P. C.; RUDOLPH, I. L.; BENITO, P.; NELSON, G.
J.; MACKAY, B. E., ERICKSON, K. L. Dietary conjugated linoleic acid did not
alter immune status in young healthy women. **Lipids**, v. 35, n. 10, p. 1065-1071,
2000.

McARDLE, W.; KATCH, F. I.; KATCH, V. L. **Essentials of exercise
physiology**. Baltimore : Lippincott Williams & Wilkins, 2 ed., 2001. 679p.

NRC **Nutrient Requirements of Dogs**, Report n° 8. National Research Council,
Washington : National Academy of Sciences, 1974. 83p.

OHNUKI, K.; HARAMIZU, S.; OKI, F.; ISHIHARA, K.; FUSHIKI, T.
Increased energy metabolism and suppressed body fat accumulation in mice by a
low concentration of conjugated linoleic acid. **Bioscience, Biotechnology and
Biochemistry**, v. 65, p. 2200-2204, 2001.

O'SHEA, M.; BASSAGANYA-RIERA, J.; MOHEDE, I. C. M.
Immunomodulatory properties of conjugated linoleic acid. **American Journal of
Clinical Nutrition**, v. 79, n. 6, p.1199S-1206S, 2004.

PARIZA, M. W.; PARK, Y.; COOK, M. E. Mechanisms of action of conjugated
linoleic acid: evidence and speculation. *In: Proceedings of the Society for
Experimental Biology and Medicine*, v. 223, p. 8-13, 2000.

PARIZA, M. W.; PARK, Y.; COOK, M. E. The biologically active isomers of
conjugated linoleic acid. **Progress in Lipid Research**, v. 40, p. 283-298, 2001.

PARK, Y.; ALBRIGHT, K. J.; LIU, W.; STORKSON, J. M.; COOK, M. E.;
PARIZA, M. W. Effect of conjugated linoleic acid on body composition in mice.
Lipids, v. 32, n.8, p. 853-858, 1997.

POWERS, S. K.; HOWLEY, E. T. **Exercise physiology theory and application
to fitness and performance**. New York : Mc Graw Hill, 4 ed., 2001. 540 p.

RAHMAN, S. M.; WANG, Y. M.; YOTSUMOTO, H.; CHA, J. Y.; HAN, S. Y.;
INOUE, S.; YANAGITA, T. Effects of conjugated linoleic acid on serum leptin
concentration, body-fat accumulation, and β -oxidation of fatty acid in OLETF.
Rats Nutrition, v. 17, p. 385-390, 2001.

REYNOLDS, A.J.; FUHRER, L.; DUNLAP, H. L.; FINKE, M. D.; KALLFELZ, F.A. Lipid metabolite responses to diet and training in sled dogs. **Journal of Nutrition**, v. 124, n. 12S, p. 2754S-2759S, 1994.

ROCHE HM, NOONE E, NUGENT A, GIBNEY MJ Conjugated linoleic acid (CLA): a novel therapeutic nutrient? **Nutrition Research Review**, v. 14, p. 173-187, 2001.

SANHUEZA, J. C.; NIETO, S. K.; VALENZUELA, A. B. Acido linoleico conjugado: un acido graso con isomeria trans potencialmente beneficioso. **Revista Chilena de Nutrición**, v. 29, n. 2, p. 98-105, 2002.

SIMI, B.; SEMPORE, B.; MAYET, M. H.; FAVIER, R. J. Additive effects of training and high-fat diet on energy metabolism during exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 71, p.197-203, 1991.

SUGANO, M.; YAMAZAKI, M.; YAMADA, K.; HUANG, Y.S. *In*: YURAWECK, M.P.; MOSSOBA, M.M.; KRAMER, J.K.P.; PARIZA, M.W.; NELSON, G.J. **Advances in conjugated linoleic acid research**. v. 1, Food and drug Administration, Center for food Safety and Applied Nutrition, Washington, p.327-329, 1999.

TERPSTRA, A. H. M.; BEYNEN, A. C.; EVERTS, H.; KOCSIS, S.; KATAN, M. B.; ZOCK, P. L. The decrease in body fat in mice fed conjugated linoleic acid is due to increases in energy expenditure and energy loss in excreta. **Journal of Nutrition**, v. 132, p. 940-945, 2002.

WEST, D.B.; DELANY, J.P.; CAMET, P.M.; BLOHM, F.; TRUETT, A.; SEIMECA, J. Effects of conjugated linoleic acid on body fat and energy metabolims in the mouse. **American Journal Physiology**, v. 275, p. 667R–672R, 1998.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O consumo alimentar neste experimento foi restrito tanto quanto ao tempo (30') quanto à quantidade de alimento fornecido (de acordo com o peso metabólico e a fase de crescimento dos cães). Apesar da ingestão em grama ser estatisticamente semelhante entre os grupos, à ingestão em energia foi maior para o grupo ALC. Isto pode ser observado nos resultados dos ensaios de digestibilidade, onde o grupo ALC apresentou maior energia metabolizável que o grupo controle.

Entretanto, não foi observado diferença na composição corporal entre os grupos. Esta diferença pode não ter sido observada devido ao uso de métodos subjetivos para avaliação de composição corporal e também ao uso de um grupo experimental considerado reduzido (n=16).

Sugerem-se pesquisas futuras com avaliações mais objetivas. A composição corporal pode ser determinada por meio de diferentes técnicas com diferentes graus de precisão e exatidão e a custos variados. Existem métodos altamente sofisticados, porém caros, de avaliação da composição corporal, incluindo absorciometria de raios-x de dupla energia, tomografia computadorizada, ressonância magnética e análise por ativação de nêutrons.

Quanto às análises bioquímicas, perfil lipídico e glicemia, não foram observados diferenças estatísticas significativas entre os grupos. Apesar do grupo experimental ter sido homogêneo quanto a idade e raça, o possível efeito do ALC sobre estes parâmetros podem não ter sido demonstrado devido ao número de animais (n=16), alto coeficiente de variação das análises, concentração de ALC na dieta (0,3%), tempo de administração de dieta suplementada e uso de animais na fase de crescimento.

São necessários mais estudos com ALC na dieta de cães, realizando experimentos com diferentes faixas etárias e condições corporais (por exemplo, cães obesos) e também diferentes concentrações de ALC adicionado na dieta.

Atualmente é interessante conhecer os processos pelo qual o organismo passa durante e após o exercício, já que as competições de pastoreio e provas de agilidade estão cada vez mais freqüentes.

Neste trabalho foi dosado o perfil lipídico e a glicemia somente após o exercício, ficando como sugestão a dosagem de enzimas e substratos antes e logo após o exercício para que se possa comparar a variação, uso desse substrato bem como sua disponibilidade na corrente sangüínea.

Outra sugestão seria a padronização de metodologias como mensuração de sítios anatômicos para avaliar composição corporal e o que pode ser chamado de “exercício”, neste experimento, o exercício foi considerado como corrida sobre esteira por 17 minutos a uma velocidade média de 4,5 km/hr.

A concentração de lactato sérica foi superior no grupo ALC quando comparado ao grupo controle ($p < 0,05$). Não foi mensurado o consumo de oxigênio neste experimento, somente a freqüência respiratória, a qual se mostrou superior a do grupo controle, mas não diferente estatisticamente. Sugere-se em experimentos futuros a realização da mensuração de consumo de oxigênio, pois foi observado em experimento com roedores maior consumo de oxigênio no grupo de ratos que ingeriram uma dieta rica em lipídeos.

Outro processo que pode ter ocorrido para esse aumento da concentração de lactato sérico seria devido à inibição da enzima piruvato desidrogenase por um aumento da oxidação de ácidos graxos. Sendo que muitas pesquisas já relacionam o uso do ALC na dieta com o aumento da oxidação de ácidos graxos no organismo, principalmente no tecido adiposo.

Além das sugestões citadas acima, faz-se necessário o desenvolvimento de mais pesquisas que avaliem separadamente os efeitos dos dois principais isômeros do ALC sobre as atividades enzimáticas, como por exemplo, carnitina palmitoil transferase, a fim de esclarecer os reais mecanismos de ação do ALC, para que então possam ser usados com segurança e eficiência nas prescrições relacionadas, por exemplo, como agente anti-obesidade e agente imunestimulador.