

UNIVERSIDADE DE SANTO AMARO – UNISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTU SENSU* EM
MEDICINA VETERINÁRIA E BEM-ESTAR ANIMAL

PAULA DE ALBUQUERQUE

**Tratamento da hiperlipidemia primária com ácidos graxos ômega 3
em cães da raça Schnauzer**

São Paulo

2017

PAULA DE ALBUQUERQUE

**Tratamento da hiperlipidemia primária com ácidos graxos ômega 3
em cães da raça Schnauzer**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Strictu Sensu* em Medicina Veterinária e Bem-Estar Animal da Universidade de Santo Amaro – UNISA para obtenção do título de Mestre

Área de Concentração: Clínica Médica e Cirúrgica de Pequenos Animais

Orientadora: Prof. Dra. Viviani de Marco Bernardes

São Paulo

2017

ALBUQUERQUE, PAULA DE

Tratamento da Hiperlipidemia Primária com Ácidos Graxos Ômega 3 em cães da raça Schnauzer / PAULA DE ALBUQUERQUE. -- São Paulo, 2017

102 f.

Dissertação (Mestrado em Medicina e Bem-Estar Animal) - Universidade de Santo Amaro, 2017

Orientador(a): PROF. DRA. VIVIANI DE MARCO

1. Cão. 2. Colesterol. 3. Triglicérides. 4. Hiperlipidemia. 5. Ácidos Graxos. I. DE MARCO, PROF. DRA. VIVIANI, orient. II. Universidade de Santo Amaro III. Título

PARECER N.02 /2016

Projeto de Pesquisa: "Tratamento da hiperlipidemia primária com ácidos graxos poliinsaturados Omega-3 em cães da raça Schnauzer"

Pesquisadores Responsáveis: Prof. Viviane Di Marco Bernarides Paula de Albuquerque

Curso: Mestrado em Bem Estar animal

Prezados Pesquisador:

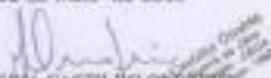
Ao se proceder à análise do processo em questão, coube a seguinte deliberação:

O Comitê de Ética em Pesquisa no Uso de Animais (CEUA-UNISA), seguindo as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa envolvendo animais, conforme a Lei federal nº 11.794 (Lei Arouca), as resoluções do CONCEA, que estabelecem os procedimentos para o uso científico de animais no país e a Lei Estadual nº 11.977/05 que institui o Código de Proteção aos Animais do Estado de São Paulo, deliberando pela **Aprovação** do Projeto "Tratamento da hiperlipidemia primária com ácidos graxos poliinsaturados Omega-3 em cães da raça Schnauzer"

* Prezados Pesquisadores o CEUA solicita:

- Relatório da pesquisa ao término do prazo estipulado no cronograma do projeto.
- Ser informado sobre qualquer alteração na metodologia informada no Projeto de Pesquisa.

São Paulo, 12 de maio de 2016


PROFA. DRA. VALÉRIA CASTILHO GONÇALVES
Coordenador do Comitê de Ética no Uso de Animais - CEUA
UNISA - Universidade de Santo Amaro

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: ALBUQUERQUE, Paula de

Título: Tratamento da hiperlipidemia primária com ácidos graxos ômega 3 em cães da raça Schnauzer

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária e Bem-Estar Animal da Universidade de Santo Amaro – UNISA para obtenção do título de Mestre

Data: 30/06/2017

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Márcio Antonio Brunetto

Instituição: Universidade de São Paulo – USP

Julgamento _____

Prof. Dr. Jonas Moraes Filho

Instituição: Universidade de Santo Amaro – UNISA

Julgamento _____

Prof. Dra. Viviani de Marco Bernardes

Instituição: Universidade de Santo Amaro – UNISA

Julgamento _____

*Ao Fabiano Roberto de Oliveira por todo incentivo dado na
realização dos meus sonhos e também por estar ao meu lado em
todos os momentos de alegria e também nos mais difíceis*

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha Mãe Iara e meu padrasto Antonio Carlos por sempre estarem ao meu lado me ajudando com bons conselhos e por sempre me ajudarem nas horas em que mais precisei.

Ao meu Pai Paulo por ter ensinado a ser persistente, paciente e a nunca desistir, por ter me ajudado sempre a realizar meus grandes sonhos e também a amar os animais.

A minha tia Maria Ângela por todo incentivo a nunca parar de estudar e por poder me proporcionar grandes momentos em minha vida.

Ao Hospital Veterinário Dr. Hato unidade de Santo André e São Bernardo do Campo por permitirem a realização dessa Pós-Graduação.

À minha orientadora Prof. Dra. Viviani de Marco Bernardes pela oportunidade de realizar esse projeto e realizar o meu sonho de fazer um mestrado.

Ao Prof. Dr. Márcio Antônio Brunetto pela ajuda na escolha do tema do projeto.

A Prof. Dra. Edna Nakandakare, Dr. Sérgio Catanozí, Kelly Gomes, Dra. Valéria Sutti por toda ajuda dada e por todos os ensinamentos que obtive na realização desse projeto.

À minha família, tios e primos e meios-irmãos que mesmo distantes sempre me incentivaram a ser alguém melhor.

À minha avó Elisa, que mesmo em toda a sua simplicidade me ensinou os caminhos do bem.

Aos meus sogros Wilson e Rosa, cunhadas e cunhados, sobrinhas e sobrinhos e tios que me acolheram tão bem em sua família.

Aos poucos e verdadeiros amigos e aos amigos que estão distantes, mas que de alguma forma se fazem presentes - Bianca da Costa Martins, Gláucia Bueno Pereira Neto, Lígia Gomes Miyazato, Maira Mattar, Tathiane Bonadío, Bruna Barros, Fernanda Bruno, Alessandra Maldonado, Ana Kelly Ricci Hato, Adalberto Von Acken, Tânia Carvalho, David Parra, Cristiane Zacchi, Renato Zanetti. Marina Dessen.

À Maria Inês Baraúna que me ajudou muito na procura dos cães para o projeto.

À Denise Alves Flor, por ser uma amiga especial e por estar ao meu lado quando precisei.

À Priscila Lopes e ao Reinaldo do Laboratório Plab que ajudaram na realização do processamento de todas as amostras.

A todos os proprietários de canis que permitiram a coleta de sangue em seus animais e a realização dessa pesquisa e a todos os tutores que permitiram a avaliação de seus animais e que aceitaram participar desse projeto

A Avert e a Total Alimentos que ajudaram na realização desse projeto

E a todos que de alguma forma fizeram parte de toda essa trajetória

"A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê."

Arthur Schopenhauer

RESUMO

ALBUQUERQUE, P; **Tratamento da hiperlipidemia primária com ácidos graxos ômega-3 em cães da raça Schnauzer** [Treatment of primary hyperlipidemia with ômega-3 fatty acids in Schnauzer breed].2017. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária e Bem-estar Animal). Universidade de Santo Amaro – UNISA, São Paulo, 2017.

A hiperlipidemia primária, evidenciada na raça Schnauzer, está associada ao maior risco de pancreatite, resistência insulínica e convulsões. Caracteriza-se por aumento da concentração plasmática de triglicérides (TG) e/ou colesterol (COL) após 12 h de jejum alimentar. Mecanismos como aumento da síntese e/ou diminuição da remoção plasmática de lipoproteínas (LP) com alta concentração de TG (LP de densidade muito baixa – VLDL - e quilomícrons) favorecem o desenvolvimento da hiperlipidemia. O diagnóstico da hiperlipidemia primária deve ser realizado a partir da exclusão de doenças endócrinas (diabetes mellitus, hipotireoidismo e hiperadrenocorticism). O presente trabalho investigou a eficácia terapêutica dos ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 em Schnauzers com hiperlipidemia primária. Dezoito cães com hiperlipidemia primária foram distribuídos em dois grupos: Grupo 1, n = 10, 8 fêmeas, 2 machos, idade (média ± desvio padrão) de $7,13 \pm 2,70$ anos e peso (média ± desvio) de $7,25 \pm 1,22$ kg que foram submetidos ao tratamento com ômega-3 (OGRAX 3[®] 1000 mg; 1 cápsula a cada 24 h) associado à uma dieta coadjuvante hipocalórica com baixo teor de gordura (Equilíbrio Veterinary O&D[®]) durante 90 dias; e Grupo 2, n = 8 cães, 6 fêmeas, 2 machos, idade de $7,0 \pm 1,77$ anos e peso de $8,36 \pm 1,51$ kg, tratados somente com ômega-3 (OGRAX 3 1000 mg; 1 cápsula a cada 24 h) durante 90 dias. Foram avaliadas as concentrações plasmáticas de TG e COL e perfil das LP (LP de densidade muito baixa - VLDL; LP de densidade baixa – LDL; LP de densidade alta - HDL) antes e após 90 dias de tratamento. As concentrações de TG e COL, expressas em mg/dL (média ± desvio padrão), antes e após o tratamento no grupo 1 foram: TG = $391,30 \pm 487,86$ (T0) e $118,7 \pm 135,21$ (T1); COL = $308,2 \pm 63,06$ (T0) e $139 \pm 36,91$ (T1). E no Grupo 2 os resultados foram: TG = $391,63 \pm 336,89$ (T0) e $250,75 \pm 211,56$ (T1); COL = $257,25 \pm 92,88$ (T0) e $207,25 \pm 63,79$ (T1). Houve redução significativa ($p < 0,05$) de TG e COL nos grupos 1 e 2. A terapia com dieta hipocalórica e ômega-3 reduziu a colesterolemia mais eficientemente em comparação aos tratados apenas com ômega-3, enquanto a redução de TG ocorreu de forma similar em ambos os grupos. O perfil de distribuição de COL e TG entre as LP não foi diferente entre os períodos pré (T0) e pós tratamento (T1). Os resultados deste estudo evidenciaram que, após 90 dias de tratamento, a

administração do ácido graxo ômega-3, associado à dieta hipocalórica ou de manutenção, reduziu a trigliceridemia e a colesterolemia sem alterar o perfil das LP plasmáticas. Contudo a associação da dieta hipocalórica e ômega-3 mostrou-se mais eficaz na redução da colesterolemia.

Palavras-chave: cão; colesterol; triglicérides; terapia

ABSTRACT

ALBUQUERQUE, P; **Treatment of primary hyperlipidemia with ômega-3 fatty acids in Schnauzer breed dogs** [Tratamento da hiperlipidemia primária com ácidos graxos ômega-3 em cães da raça Schnauzer].2017. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária e Bem-estar Animal). Universidade de Santo Amaro – UNISA, São Paulo, 2017.

Primary hyperlipidemia, evidenced in the Schnauzer breed, is associated with an increased risk of pancreatitis, insulin resistance and seizures. It is characterized by an increase in the plasma concentration of triglycerides (TG) and / or cholesterol (COL) after 12 h of alimentary fasting. Mechanisms such as increased synthesis and / or decreased plasma clearance of TG (very low density LP - VLDL - and chylomicrons) plasma lipoproteins (LP) favor the development of hyperlipidemia. The diagnosis of primary hyperlipidemia should be made from the exclusion of endocrine diseases (diabetes mellitus, hypothyroidism and hyperadrenocorticism). The present research investigated the therapeutic efficacy of omega-3 polyunsaturated fatty acids in Schnauzers with primary hyperlipidemia. Eighteen dogs with primary hyperlipidemia were divided into two groups: Group 1, n = 10, 8 females, 2 males, age (mean \pm standard deviation) of 7.13 ± 2.70 years and weight (mean \pm standard deviation) 7.25 ± 1.22 kg were treated with omega-3 (OGRAX 3® 1000 mg, 1 capsule every 24 hours) associated with a low-calorie and low-fat diet (Veterinary O & D® Equilibrium) for 90 days; And Group 2, n = 8 dogs, 6 females, 2 males, age (mean \pm standard deviation) of 7.0 ± 1.77 years and weight (mean \pm standard deviation) of 8.36 ± 1.51 kg, were treated only with omega-3 (OGRAX 3 1000 mg, 1 capsule every 24 hours) for 90 days. Plasma concentrations of TG and COL and LP profile (very low density LP - VLDL; low density LP - high density LP - HDL) were evaluated before and after 90 days of treatment. TG and COL concentrations, expressed as mg / dL (mean \pm standard deviation), before and after treatment in group 1 were: TG = 391.30 ± 487.86 (T0) and 118.7 ± 135.21 (T1); COL = 308.2 ± 63.06 (T0) and 139 ± 36.91 (T1). And in Group 2 the results were: TG = 391.63 ± 336.89 (T0) and 250.75 ± 211.56 (T1); COL = 257.25 ± 92.88 (T0) and 207.25 ± 63.79 (T1). There was a reduction ($p < 0.05$) of TG and COL in Groups 1 and 2. The hypocaloric diet and omega 3 reduced cholesterolemia more efficiently when compared to those treated with omega alone, whereas TG reduction occurred similarly in both groups. The distribution profile of COL and TG among the LP was not different between the pre (T0) and post treatment (T1) periods. The results of this study showed that, after 90 days of treatment, the administration of omega-3 fatty acid, associated with the hypocaloric or maintenance diet,

reduced triglyceridemia and cholesterolemia without altering the plasma LP profile. In any case, the association of the hypocaloric diet and omega-3 has been shown to be more effective in the reduction of cholesterolemia.

Keywords: dog; cholesterol; triglycerides; therapy

LISTA DE TABELAS

- TABELA 1** - Identificação dos 20 cães hípidos da raça Schnauzer, de acordo com idade, sexo, escore de condição corporal e suas concentrações séricas de triglicérides e colesterol (SP/2015-17)..... 68
- TABELA 2** - Identificação dos 10 animais pertencentes ao grupo 1, bem como os seus respectivos valores de colesterol, triglicérides, ALT, FA, Glicose e T4 livre, previamente à instituição da terapia (T0) (SP 2015/2017).....70
- TABELA 3** - Identificação dos 8 animais pertencentes ao grupo 2, bem como os seus respectivos valores de colesterol, triglicérides, ALT, FA, Glicose e T4 livre, previamente à instituição da terapia (T0) (SP 2015-2017)..... 71
- TABELA 4** - Identificação dos 10 animais pertencentes ao grupo 1, bem como os seus respectivos valores de colesterol, triglicérides, antes da instituição da terapia com Ômega-3 e dieta hipocalórica (T0) e 90 dias após a instituição da terapia (T1) (SP 2015-2017)..... 73
- TABELA 5** - Identificação dos 8 animais pertencentes ao grupo 2, bem como os seus respectivos valores de colesterol e triglicérides, antes da instituição da terapia com ômega-3 (T0) e 90 dias após a instituição da terapia (T1) (SP 2015-2017)..... 74
- TABELA 6** - Efeito do tratamento com ômega e Dieta (grupo 1) e tratamento com ômega (grupo 2) sobre o Δ Colesterol e Δ Triglicérides (porcentagem) (média, desvio padrão (DP), mediana, mínima e máxima)..... 77
- TABELA 7** - Concentrações plasmáticas de colesterol total, triglicérides total e distribuição percentual de colesterol e triglicérides nas frações de lipoproteínas determinadas por FPLC no grupo 1 (ômega-3 e dieta), antes (T0) e 90 dias após o tratamento (T1) (SP 2015-2017).....80
- TABELA 8** - Concentrações plasmáticas de colesterol total, triglicérides total e distribuição percentual de colesterol e triglicérides nas frações de lipoproteínas determinadas por FPLC no grupo 2 (ômega-3), antes (T0) e 90 dias após o tratamento (T1) (SP 2015-2017)..... 80

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura da lipoproteína.	26
Figura2: Representação do tamanho das lipoproteínas.....	26
Figura 3: Metabolismo das lipoproteínas em cães.....	26
Figura 4: Lipemia no plasma.....	28
Figura 5: Lipemia no soro.....	28
Figura 6: Comparação entre amostras de soro, a primeira de um cão normal e as demais apresentam lipemia.	28
Figura 7: Frequência de hipertrigliceridemia isolada, hipercolesterolemia isolada e hiperlipidemia mista em 120 cães hígdos da raça Schnauzer (SP/2015-2017).....	66
Figura 8: Frequência de hipertrigliceridemia isolada, hipercolesterolemia isolada e hiperlipidemia mista dos 18 cães hígdos da raça Schnauzer (SP 2015-2017).....	62
Figura 9: Frequência de hiperlipidemia mista, hipertrigliceridemia isolada e hipercolesterolemia isolada em 18 cães hígdos da raça Schnauzer, pertencentes aos grupos 1 e 2 antes da instituição das terapias (SP 2015-2017).....	69
Figura 10: Comparação sérica das concentrações de colesterol e triglicérides antes (T0) e 90 dias após o tratamento (T1) dos animais do grupo 1 (ômega e dieta hipocalórica) (SP 2015-2017).....	75
Figura 11: Comparação sérica das concentrações de colesterol e triglicérides antes (T0) e 90 dias após o tratamento (T1) dos animais do grupo 2 (ômega) (SP 2015-2017)	76
Figura 12: Representação do perfil de distribuição da porcentagem do colesterol total e do triglicérides nas frações de lipoproteínas determinadas pela cromatografia <i>Fast Protein Liquid Chromatography</i> (FPLC) dos cães do grupo 1. Comparação do perfil de distribuição de colesterol e triglicérides antes e após tratamento (A e B) e Comparação do perfil de distribuição apenas do colesterol antes e após tratamento (C) e apenas dos triglicérides antes e após tratamento (D). (Laboratório de lípides LIM/10, FM-USP, 2015-2017).....	78
Figura 13: Representação do perfil de distribuição da porcentagem do colesterol total e do triglicérides nas frações de lipoproteínas determinadas pela cromatografia <i>Fast Protein Liquid Chromatography</i> (FPLC) dos cães do grupo 2. Comparação do perfil de distribuição de colesterol e triglicérides antes e após tratamento (A e B) e comparação do perfil de distribuição apenas do colesterol antes e após tratamento (C) e apenas dos triglicérides antes e após tratamento (D). (Laboratório de lípides LIM/10, FM-USP, 2015-2017).....	79

LISTA DE ABREVIATURAS

- ACTH** - Hormônio aAdrenocorticotrófico
- AGL** - Ácidos graxos livres
- ALT** - Alanina amino transferase
- Apo A** - Apolipoproteína A
- ApoB** - Apolipoproteína B
- ApoC** - Apolipoproteína C
- ApoE** - Apolipoproteína E
- ApoLP** - Apolipoproteínas
- CE** — Colesterol EsterificadoÉsteres de colesterol
- CETP** - Proteína de transferência de colesterol esterificado
- CK** - Creatinoquinase
- CL** - Colesterol lLivre
- COL** – Colesterol
- DHA** – Ácido graxo - docosahexaenóico
- EPA** — Ácido graxoEicosapentaenóico
- FL** - Fosfolípidios
- FPLC** – *Fast pProtein Lliquid Cchromatography*
- HDL** - *Hhigh density lipoprotein*
- HDL C** - *High dDensity lLipoprotein* cholesterol
- HDL-TG** –*High dDensity lLipoprotein Ttriglycerides*
- HMGCOA-3** - 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A
- IDL** - *intemediate density lipoprotein*
- LCAT** - Lecitina Ccolesterol Aacetiltransferase
- LDL** - *Llow density lipoprotein*
- LHS** - Lipase hHormônio sSensível
- LP** - Lipoproteínas
- LPL** – Lipase de lipoproteínas
- LPLH** – Lipase de lLipoproteínas hHepática
- PPAR** - Receptores ativadores e proliferadores de peroxissomos
- QM** - quilomicrons
- T4** – Tetraiodotironina

TG - Triglicérides

TSH – Hormônio Ttireoestimulante

VLDL - *Vvery low density lipoprotein*

VLDL-C – *Very lLow dDensity Llipoprotein cholesterol*

VLDL-QM – *VVery lLow dDensity Llipoprotein Cchilomicron*

VLDL-TG – *Very Llow dDensity Llipoprotein Ttriglycerides*

VR - Valor de referência

Sumário

1. INTRODUÇÃO	21
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	23
2.1. METABOLISMO DOS LIPÍDEOS E LIPOPROTEÍNAS	23
2.1.1. LIPÍDEOS	23
2.1.1.1. ÁCIDOS GRAXOS	23
2.1.1.2. COLESTEROL.....	24
2.1.1.3. TRIGLICÉRIDES	24
2.1.1.4. FOSFOLIPÍDIOS	24
2.1.2. LIPOPROTEÍNAS	25
2.1.2.1. QUILOMÍCRONS (QM)	26
2.1.2.2. VERY LOW DENSITY LIPOPROTEIN (VLDL).....	27
2.1.2.3. LOW DENSITY LIPOPROTEIN (LDL).....	27
2.1.2.4. HIGH DENSITY LIPOPROTEIN (HDL)	27
2.1.3. APOLIPOPROTEÍNAS	28
2.1.3.1. APOLIPOPROTEÍNA A (ApoA)	29
2.1.3.2. APOLIPOPROTEÍNA B (ApoB).....	29
2.1.3.3. APOLIPOPROTEÍNA C (ApoC).....	30
2.1.3.4. APOLIPOPROTEÍNA E (ApoE)	30
2.1.4. ENZIMAS LIPÍDICAS DO PLASMA.....	31
2.1.4.1. LIPASE DE LIPOPROTEÍNAS (LPL).....	31
2.1.4.2. LIPASE DE LIPOPROTEÍNAS HEPÁTICA (LPLH).....	31
2.1.4.3. LECITINA COLESTEROL ACETILTRANSFERASE (LCAT).....	32
2.1.4.5. PROTEÍNA DE TRANSFERÊNCIA DE ÉSTERES DE COLESTEROL (CETP).....	32
2.1.5. ASPECTOS COMPARATIVOS DO METABOLISMO DAS LIPOPROTEÍNAS	33
2.1.6. METABOLISMO LIPÍDICO DE ORIGEM EXÓGENA (Figura 3).....	34
2.1.7. METABOLISMO LIPÍDICO DE ORIGEM ENDÓGENA (Figura 3).....	35
2.2. HIPERLIPIDEMIA	37
2.2.1. MENSURAÇÃO DE LIPÍDEOS E LIPOPROTEÍNAS	39
2.2.2. CLASSIFICAÇÃO DA HIPERLIPIDEMIA.....	40
2.2.2.1. HIPERLIPIDEMIA FISIOLÓGICA OU PÓS-PRANDIAL	41

2.2.2.2. HIPERLIPIDEMIA SECUNDÁRIA	41
2.2.2.2.1. ENDOCRINOPATIAS	42
2.2.2.2. SÍNDROME NEFRÓTICA.....	44
2.2.2.3. PANCREATITE.....	45
2.2.2.4. COLESTASE HEPÁTICA.....	45
2.2.2.5. FENOBARBITAL.....	46
2.2.3. HIPERLIPIDEMIA PRIMÁRIA IDIOPÁTICA	46
2.3. HIPERLIPIDEMIA PRIMÁRIA DO SCHNAUZER	47
2.3.1. ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS	48
2.3.2. MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS E CONSEQUÊNCIAS DA HIPERLIPIDEMIA PRIMÁRIA	48
2.3.3. DIAGNÓSTICO.....	50
2.3.4. TRATAMENTO	51
2.3.4.1. TERAPIA DA HIPERLIPIDEMIA.....	51
2.3.4.2. TERAPIA MEDICAMENTOSA	52
2.3.4.2.1. NIACINA OU ÁCIDO NICOTÍNICO.....	52
2.3.4.2.2. FIBRATOS	53
2.3.4.2.3. ESTATINAS.....	54
2.3.4.2.4. INIBIDORES DA ABSORÇÃO DO COLESTEROL.....	55
2.3.4.2.5. RESINAS SEQUESTRADORAS DE ÁCIDOS BILIARES (Colestipol, Colesteramina e Colesevelam).....	56
2.3.4.3. USO DO ÔMEGA-3 PARA A TERAPIA DA HIPERLIPIDEMIA	56
2.3.5. PROGNÓSTICO	60
3. JUSTIFICATIVA	62
4. OBJETIVOS	62
5. MATERIAL E MÉTODOS	63
5.1 ANIMAIS	63
5.2 METODOLOGIA.....	68
6. ANÁLISE ESTATÍSTICA	71
7. RESULTADOS	72

8.DISSCUSSÃO	87
9.CONCLUSÃO.....	93
10.LIMITAÇÕES	94
REFERÊNCIAS	95
ANEXO.....	104

1. INTRODUÇÃO

Hiperlipidemia refere-se ao aumento das concentrações de lipídeos no sangue, provocado pelo aumento de colesterol (COL), triglicérides (TG) ou de ambos (hiperlipidemia mista) (XENOULIS e STEINER, 2010; DODKIN e PAPASOULIOTIS, 2015).

A hiperlipidemia é uma condição emergente importante em cães e necessita de uma abordagem diagnóstica sistemática e tratamento apropriado, pois várias complicações clínicas e comorbidades têm sido associadas à esta condição que no passado não eram reconhecidas, pois acreditava-se que a hiperlipidemia tratava-se de uma doença benigna (XENOULIS e STEINER, 2015).

A hiperlipidemia é relativamente comum, podendo ser primária ou secundária. A forma primária é quase sempre de origem familiar ou hereditária (geralmente associada a raças específicas) (JOHNSON, 2005; XENOULIS, 2008; XENOULIS e STEINER, 2015). A forma secundária é mais prevalente na espécie canina e ocorre como consequência de doenças que interferem no metabolismo das lipoproteínas, como as doenças endócrinas (diabetes *mellitus*, hiperadrenocorticism, hipotireoidismo e obesidade), pancreatite aguda, colestase hepática, síndrome nefrótica e também pode ser consequência de uma dieta ingestão prolongada de alimentos com alta concentração de gordura ou secundária a medicamentos como os glicocorticóides e o fenobarbital (WHITNEY, 1992; WATSON e BARRIE, 1993; XENOULIS e STEINER, 2015).

Dentre as causas de hiperlipidemia estão o aumento da produção de quilomícrons (QM), aumento na produção de VLDL ou ainda, a eliminação ineficaz das partículas de VLDL (JOHNSON, 2005; XENOULIS e STEINER, 2010).

Deve-se suspeitar de hiperlipidemia primária quando as causas secundárias forem descartadas (NELSON, 1998; XENOULIS et al., 2007). Na raça Schnauzer, a hiperlipidemia pode ser caracterizada por acúmulo anormal de VLDL e/ou quilomícrons, e a hipercolesterolemia nem sempre está associada (XENOULIS et al., 2007; REIS et al., 2011; XENOULIS e STEINER, 2015).

A modificação na dieta é uma das etapas mais importantes para o tratamento da hiperlipidemia primária (CATANOZI, 2015; XENOULIS e STEINER, 2015).

Uma das opções de tratamento da hiperlipidemia é a utilização dos ácidos graxos ω -3, proveniente dos peixes marinhos de águas frias e profundas (BOOTHE, 1997;

LENOX e BAUER, 2013), os quais têm sido amplamente utilizados na medicina humana como tratamento auxiliar em diversas doenças, incluindo as dislipidemias (BAUER, 1995; JOHNSON, 2005; LE BLANC et al., 2005; XENOULIS e STEINER, 2010).

Em seres humanos, a capacidade do ômega-3 em reduzir as concentrações de triglicérides é reconhecida, porém em doses bem mais elevadas, e por este motivo, dificilmente é utilizado como monoterapia. Em cães, o ômega-3 também têm sido empregado em diversas doenças como terapia complementar, porém a dose utilizada costuma ser a mesma para todas as comorbidades e não está bem estabelecida. Além disso, inexistem estudos clínicos em cães com hiperlipidemia para testar sua capacidade hipolipemiante.

Dessa forma, é bastante pertinente um estudo clínico em cães com hiperlipidemia primária que avalie a eficácia terapêutica deste nutracêutico, uma vez que os produtos comerciais a base de ômega-3 apresentam como uma das suas indicações o tratamento da hiperlipidemia e já são amplamente prescritos por médicos veterinários.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. METABOLISMO DOS LIPÍDEOS E LIPOPROTEÍNAS

2.1.1. LIPÍDEOS

Os lipídeos são substâncias que se caracterizam por serem insolúveis em meio aquoso. São importantes fornecedores de energia aos organismos, atuam como precursores da síntese de hormônios, vitaminas, componentes da bile e das membranas celulares, podem atuar também modulando positiva ou negativamente a resposta inflamatória e também atuam como mensageiros extra e intracelulares (SCARTEZINI et al., 2003; MAHLEY et al., 2008; XENOULIS e STEINER, 2010).

Os lipídeos são representados por ácidos graxos livres (AGL), triglicérides (TG) ou triacilgliceróis, fosfolípidios (FL) e colesterol (COL) o qual pode estar como colesterol livre (CL) e como ésteres de colesterol (CE) (SCARTEZINI et al., 2003; MAHLEY et al., 2008; PASSARELLI, 2011).

2.1.1.1. ÁCIDOS GRAXOS

Os ácidos graxos são classificados de acordo com o grau de saturação. Os saturados não possuem dupla ligação entre os átomos de carbono (SCARTEZINI et al, 2003), os insaturados possuem uma ou mais duplas ligações (MAHLEY et al., 2008), os monoinsaturados possuem uma dupla ligação e os poliinsaturados possuem duas ou mais duplas ligações (SCARTEZINI et al, 2003; MAHLEY et al. 2008).

São lipídios relativamente simples e também são importantes componentes de outros lipídios (XENOULIS e STEINER, 2010). Na dieta, predominam os ácidos graxos saturados de origem animal e os insaturados de origem vegetal, além disso, apresentam função energética,

estão presentes na síntese de prostaglandinas e fornecem Acetil - COA para síntese de outros lipídeos (SCARTEZINI et al., 2003).

2.1.1.2. COLESTEROL

É o principal esteroide dos tecidos animais (XENOULIS e STEINER, 2010), pode se apresentar na forma livre (componente estrutural das membranas celulares e nas superfícies da lipoproteína) ou esterificada (armazenada no interior das células e dentro das lipoproteínas) (SCARTEZINI et al., 2003).

A principal fonte de colesterol é a dieta, mas também pode ser sintetizado pelo fígado (WATSON e BARRIE, 1993; XENOULIS e STEINER, 2010) e outros tecidos e ainda serve como precursor para síntese dos hormônios esteroides, vitamina D e ácidos biliares (SCARTEZINI et al., 2003; MAHLEY et al, 2008; XENOULIS E STEINER, 2010).

2.1.1.3. TRIGLICÉRIDES

Principal constituinte do tecido adiposo, é a forma mais comum e eficiente de armazenar energia nos mamíferos. São obtidos a partir da dieta (WATSON e BARRIE, 1993; SCARTEZINI et al., 2003) ou são produzidos pelo organismo, a partir da esterificação do glicerol com três moléculas de ácidos graxos, na célula da mucosa intestinal, fígado ou no tecido adiposo (SCARTEZINI et al., 2003).

2.1.1.4. FOSFOLIPÍDIOS

Atuam na função estrutural da dupla camada que constituem as membranas celulares e estão presentes, também, nas superfícies das lipoproteínas (SCARTEZINI et al., 2003), na

forma de monocamadas que atuam como interface entre a porção polar dos componentes do plasma e a não polar dos lipídeos contidos no núcleo das lipoproteínas (GINSBERG, 1998).

2.1.2. LIPOPROTEÍNAS

As lipoproteínas constituem agregados macromoleculares de lipídeos e proteínas (CATANOZI, 2015; CRISPIN, 2016). Os lipídeos não são solúveis em meio aquoso, como o plasma e dessa forma, devem ser transportados pelas lipoproteínas (GINSBERG, 1998; XENOULIS e STEINER, 2010).

São estruturas que consistem de núcleo hidrofóbico que contém ésteres de colesterol e triglicérides e a camada externa que contém colesterol livre, fosfolipídios, e proteínas, que protegem o núcleo lipídico, conferindo característica anfifílica (hidrofóbica e hidrofílica) (FORD e LUDLOW, 2010; XENOULIS e STEINER, 2010; CRISPIN, 2016) (**Figura 1**).

As lipoproteínas também transportam vitaminas lipossolúveis, como a vitamina A, D e E (MAHLEY et al., 2008; PASSARELLI, 2011) e ainda, podem transportar alguns medicamentos, vírus e enzimas antioxidantes (MAHLEY et al., 2008).

Os ácidos graxos não esterificados formam complexos com a albumina e não necessitam, portanto, serem transportados pelas lipoproteínas (BAUER, 2004a; PASSARELLI, 2011; CRISPIM, 2016).

As lipoproteínas se diferenciam de acordo com o tamanho, densidade, composição, carga elétrica lipídica e função metabólica. Podem ser classificadas em quatro categorias principais (**Figura 2**): Quilomícrons (QM), *Very low density lipoprotein* (VLDL), *Low density lipoprotein* (LDL), *High density lipoprotein* (HDL) (JOHNSON, 2005; XENOULIS e STEINER, 2010; CRISPIN, 2016).

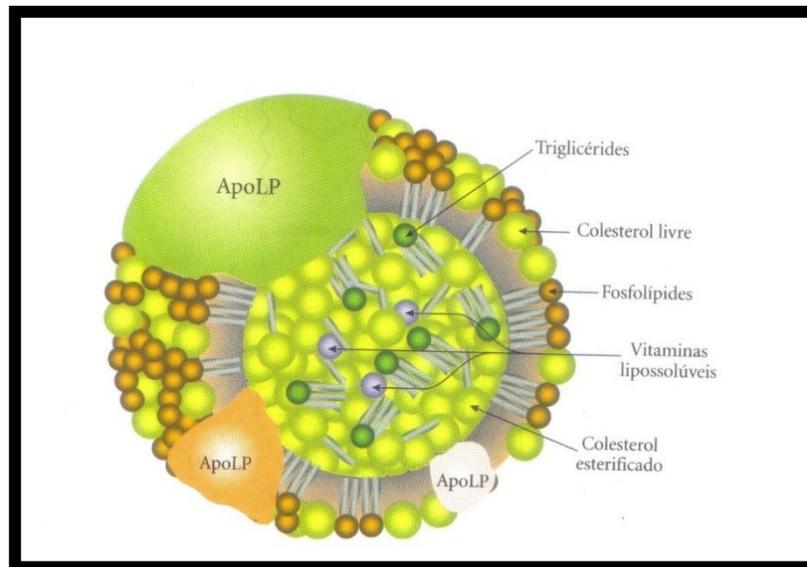
Em humanos, é encontrada uma lipoproteína de densidade intermediária, *Intermediate density lipoprotein* (IDL), porém a mesma ainda não foi identificada em cães (WATSON, 1996; XENOULIS e STEINER, 2010) e de acordo com PASSARELLI (2011), a IDL deve ser avaliada em seres humanos, já que existem afecções causadas pelo seu acúmulo no sangue com características aterogênicas.

Em 1974, MAHLEY e WEISGRABER demonstraram que o cão tem 4 classes distintas de lipoproteínas, as quais poderiam ser isoladas por meio da ultracentrifugação combinada com

a eletroforese que correspondiam ao VLDL, LDL e HDL. Ainda nesse estudo, foi possível isolar também a apolipoproteína A I e A II.

As lipoproteínas dos cães e gatos podem ser comparadas com as lipoproteínas dos seres humanos, porém é importante lembrar que existem diferenças entre as espécies (BAUER, 2004b).

Figura 1: Estrutura da lipoproteína. Fonte: Passarelli (2011)



2.1.2.1. QUILOMÍCRONS (QM)

São as maiores partículas produzidos pelas células do epitélio intestinal, seu conteúdo é elevado em TG provenientes da dieta (SCARTEZINI, 2003; JOHNSON, 2005; PASSARELLI, 2011) mas tem baixa concentração de colesterol e fosfolípidios e, de acordo com PASSARELLI (2011), podem conter vitaminas lipossolúveis.

Além disso, é importante considerar que aparecem no sangue duas a três horas após as refeições o que remete ao aumento da concentração sanguínea de triglicérides (PASSARELLI, 2011). A hidrólise dos quilomícrons normalmente é completa em 6 a 12 horas após a refeição (FORD e LUDLOW, 2010).

2.1.2.2. LIPOPROTEÍNA DE DENSIDADE MUITO BAIXA DENSIDADE (VLDL)

Apresentam densidade muito baixa e são volumosas, mas são menores do que os QM (JOHNSON, 2005; PASSARELLI, 2011) e assim como eles, também apresentam alta concentração de triglicérides, porém nesse caso, de origem endógena e de proveniência hepática (SCARTEZINI et al., 2003).

A VLDL canina e felina é similar à VLDL de seres humano (WATSON, 1996), e uma vez liberada na corrente sanguínea, distribuem metabólitos de triglicérides para os tecidos (OGEDEGBE e BROWN, 2001).

2.1.2.3. LIPOPROTEÍNA DE BAIXA DENSIDADE (LDL)

A LDL canina e felina é similar a LDL humano de acordo com as características físico – químicas (WATSON, 1996).

As LDL são pequenas (SCARTEZINI et al, 2003) e são as principais carreadoras de colesterol na circulação em seres humanos, alguns primatas e em animais de laboratório modificados geneticamente (OGEDEGBE e BROWN, 2001; PASSARELLI, 2011), mas também apresentam pequenas quantidades de triglicérides que são destinadas aos tecidos e as partículas remanescentes são removidas da circulação pelo fígado (JOHNSON, 2005; FORD e LUDLOW, 2010). É importante ressaltar, que as LDLs, também podem ser removidas da circulação por macrófagos que revestem grandes artérias, ação que predispões à aterosclerose (JOHNSON, 2005).

2.1.2.4. LIPOPROTEÍNA DE ALTA DENSIDADE (HDL)

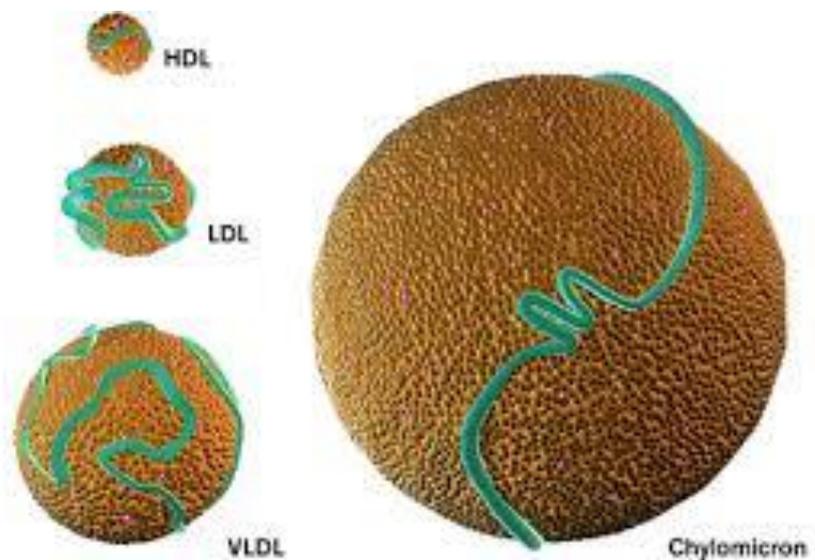
São produzidas pelo fígado, intestino ou ainda, a partir do metabolismo dos QM e do VLDL e transportam o colesterol dos tecidos para o fígado realizando o chamado transporte reverso do colesterol (WATSON e BARRIE, 1993; FORD e LUDLOW, 2010), onde o colesterol será excretado na forma de ácidos biliares (CRISPIN, 2016). Além disso, existe ainda

uma outra forma de excreção do colesterol que não ocorre pela via biliar, é a chamada via de efluxo de colesterol trans-intestinal, onde ocorre a excreção fecal do colesterol, tanto nos humanos como nos cães e ainda não está completamente elucidada qual a verdadeira contribuição dessa via para tais espécies (CRISPIN, 2016).

Em 1974, MAHLEY e WEISGRABER, isolaram por meio da ultracentrifugação a HDL2 e a HDL1 em cães, demonstrando que essas lipoproteínas seriam as responsáveis por transportar na corrente sanguínea a maior parte do colesterol plasmático.

A HDL pode ser subdividida em HDL 2 e HDL 3 (JOHNSON, 2005; MORI et al., 2011). Os cães apresentam HDL 1, que aparecem no plasma de espécies que não apresentam a atividade da proteína de transferência de ésteres de colesterol (CETP), que será descrita mais adiante (JOHNSON, 2005; CRISPIN, 2016).

Figura 2: Representação do tamanho das lipoproteínas. Fonte: www.herabeauty.com.br



2.1.3. APOLIPOPROTEÍNAS

São componentes proteicos, solúveis em água e fazem parte do arranjo estrutural das lipoproteínas (CATANOZI, 2015), desempenham papéis importantes na regulação do metabolismo das lipoproteínas (GINSBERG, 1998) e no seu transporte (WATSON e BARRIE,

1993; XENOULIS e STEINER, 2010). As lipoproteínas podem conter uma ou mais apolipoproteínas (XENOULIS e STEINER, 2010).

As ApoLP com funções mais conhecidas são representadas pelas famílias das Apo A, B, C e E (XENOULIS e STEINER, 2010; PASSARELLI, 2011).

Atuam na formação e no transporte das lipoproteínas pelas células (PASSARELLI, 2011), se ligam a receptores celulares, atuam como cofatores para proteínas e enzimas envolvidas no metabolismo dos lipídios (XENOULIS e STEINER, 2010; PASSARELLI, 2011). Anormalidades ou deficiência em apolipoproteínas específicas alteram o metabolismo das lipoproteínas culminando em hiperlipidemia (FORD e LUDLOW, 2010).

De acordo com Watson e Barrie (1993), as principais ApoLP dos cães e gatos são ApoB48, ApoB100, ApoA, ApoC e ApoE.

2.1.3.1. APOLIPOPROTEÍNA A (ApoA)

É sintetizada no fígado e no intestino delgado (GINSBERG, 1998) e ativa a enzima lecitina colesterol acetiltransferase (LCAT) (GINSBERG, 1998; XENOULIS e STEINER, 2010) que esterifica o colesterol livre nas pequenas partículas de HDL, e além disso, a ApoA I tem papel importante no transporte reverso do colesterol (GINSBERG, 1998).

A ApoA I é a principal apolipoproteína do HDL, sendo assim, participam da remoção do colesterol celular, possuem ação anti-inflamatória, ação antioxidantes, ação antitrombogênica e ação vasodilatadora, além de estimular a captação de glicose e oxidação dos ácidos graxos (PASSARELLI, 2011).

2.1.3.2. APOLIPOPROTEÍNA B (ApoB)

De acordo com Passarelli (2011) são as apolipoproteínas estruturais mais importantes por se manterem fixas em suas lipoproteínas. A ApoB não faz troca entre as lipoproteínas.

As ApoB 100 são necessárias para estruturar e secretar as VLDL pelo fígado e os indivíduos que não a secretam normalmente também não secretam VLDL (GINSBERG, 1998)

e além disso atua no catabolismo da LDL (GINSBERG, 1998 e XENOULIS e STEINER, 2010).

A ApoB 48 está presente no QM e é necessária para estruturá-los e secretá-los (GINSBERG, 1998; XENOULIS e STEINER, 2010).

2.1.3.3. APOLIPOPROTEÍNA C (ApoC)

Modulam a enzima lipase de lipoproteínas (LPL) sendo que a ApoC II ativa essa enzima e Apo C III inibe a atividade enzimática (PASSARELLI, 2011). Tanto a Apo CI, Apo C II e Apo C III são sintetizadas pelo fígado (GINSBERG, 1998).

ApoC I – Encontrada no QM, VLDL e no HDL, pode ativar a LCAT e modula a ligação das lipoproteínas remanescentes a receptores (PASSARELLI, 2011)

ApoC II – É encontrada nos QM, VLDL, IDL e HDL (XENOULIS e STEINER, 2010) e está principalmente relacionada com os QM no período pós-prandial imediato e com VLDL e HDL, durante o jejum, e ativa a lipase de lipoproteínas (LPL) (GINSBERG, 1998).

ApoC III – Principal componente do VLDL, mas também está presente em QM, IDL e HDL (XENOULIS e STEINER, 2010) e segundo Ginsberg (1998), inibe a LPL e a captação de QM e VLDL remanescentes pelo fígado.

2.1.3.4. APOLIPOPROTEÍNA E (ApoE)

Sintetizada pelo fígado e encontrada em todas as lipoproteínas. Remove as lipoproteínas remanescentes do plasma (GINSBERG, 1998) e estimulam a captação de QM, VLDL, LDL por receptores específicos hepáticos, no tecido adiposo, muscular e em macrófagos (PASSARELLI, 2011).

2.1.4.ENZIMAS LIPÍDICAS DO PLASMA

2.1.4.1.LIPASE DE LIPOPROTEÍNAS (LPL)

Localizada na superfície das células endoteliais dos capilares, faz hidrólise dos TGs em QM e VLDL na presença do cofator ApoC II (FORD, 1993; GISNBERG, 1998; XENOULIS e STEINER, 2010).

Atua na hidrólise das lipoproteínas ricas em triglicérides produzindo ácidos graxos livres, mono/diacilglicerol e glicerol (FORD;1993; XENOULIS e STEINER, 2010).

Produzida em vários tecidos, sendo eles tecido adiposo, músculos e músculo cardíaco e nas glândulas mamárias em lactação (WATSON, 1996; CATANOZI, 2015) e pode ser encontrada também nas adrenais, macrófagos, túbulos proximais renais, ilhotas pancreáticas e pulmões (PASSARELLI, 2011).

De acordo com Ford (1993), a deficiência dessa enzima resulta no retardo do “*clearance*” de QM e prejudica o “*clearance*” do VLDL.

2.1.4.2.LIPASE DE LIPOPROTEÍNAS HEPÁTICA (LPLH)

Localizada nas células endoteliais dos capilares sinusóides Sua ação está relacionada com a remoção de triglicérides e fosfolípidos do QM e VLDL remanescentes e com a viabilização da captação dos QM pelo fígado (GINSBERG, 1998; XENOULIS e STEINER, 2010), contudo, acredita-se que essa enzima também possa estar presente nas glândulas adrenais e nos ovários, porém é suposto que ela não seja produzida nesses locais, mas sim que ela seja produzida pelo fígado e então, transportada pelo sangue (PASSARELLI, 2011).

2.1.4.3.LECITINA COLESTEROL ACETILTRANSFERASE (LCAT)

Relacionada principalmente com a estrutura das HDL (XENOULIS e STEINER, 2010; PASSARELLI, 2011). Sua ação é a de converter o colesterol livre adquiridos dos tecidos periféricos pela HDL em ésteres de colesterol (WATSON, 1996; XENOULIS e STEINER, 2010) e a partir dessa conversão ocorre a conversão da HDL 3 e em HDL 2 (JOHNSON, 2005; CATANOZI, 2015).

Segundo Crispin (2016), essa enzima também permite que o HDL 2 continue a adquirir ésteres de colesterol e forme a HDL1. Essa enzima é ativada pela ApoA I (WATSON e BARRIE, 1993).

2.1.4.5.PROTEÍNA DE TRANSFERÊNCIA DE ÉSTERES DE COLESTEROL (CETP)

Sintetizada no fígado e presente no plasma tem função de intermediar a troca dos TGs do VLDL e QM para o HDL 2 e ésteres de colesterol HDL 2 para o VLDL e LDL (GINSBERG, 1998; XENOULIS e STEINER, 2010).

Segundo Catanozi (2015), transfere os TGs no sentido inverso, das lipoproteínas com alta concentração de TG para as HDL.

Atuam no transporte reverso do colesterol, no qual os ésteres de colesterol são encaminhados para o fígado (WATSON e BARRIE, 1993; CATANOZI, 2015).

A atividade dessa enzima não foi identificada em cães (HA e BARTER, 1982¹ apud CRISPIN, 2016) e nesse caso, a maior parte de HDL continua captando ésteres de colesterol e ApoE até formar o HDL 1(WATSON e BARRIE, 1993) sendo única em cães (XENOULIS, 2008; CRISPIN, 2016).

¹ HA, Y.C.; BARTER, P.J.; Differences in plasma cholesteryl transfer activity in sixteen vertebrate species; Comparative Biochemistry and Physiology, p.265-269

2.1.5.ASPECTOS COMPARATIVOS DO METABOLISMO DAS LIPOPROTEÍNAS

As composições das lipoproteínas são distintas entre as espécies de animais e podem ser classificadas em 2 grupos, animais HDL (cão, gato, cavalo) e animais LDL (homem, coelho, suíno, primatas). A maior parte dos animais apresenta maior concentração de HDL circulante, ao contrário dos seres humanos que apresentam maior concentração de LDL (CATANOZI, 2015; CRISPIN, 2016).

As espécies de animais podem também ser caracterizadas pela baixa atividade da enzima CETP (espécies HDL) (CATANOZI, 2015; CRISPIN, 2016), animais com atividade de CETP intermediária (homem, por exemplo) e animais com alta atividade da CETP (coelho, por exemplo). Os animais HDL são menos predispostos a desenvolverem doenças cardiovasculares relacionadas a aterosclerose (CATANOZI, 2015).

Nos animais HDL, grande parte da VLDL, apresentam ApoB48 na composição, ao passo que nas outras espécies o VLDL é constituído por ApoB100. A VLDL ApoB48 tem maior concentração ApoE e maior afinidade pelos receptores de LDL, determinando maior remoção da VLDL ApoB48 e sintetiza menos LDL (CATANOZI, 2015).

Em humanos, é encontrada uma lipoproteína de densidade intermediária, *Intermediate Density Lipoprotein* (IDL) que ainda não foi identificada em cães (WATSON, 1996; BAUER, 2004b; XENOULIS e STEINER, 2010)

A enzima LCAT também apresenta diferença em relação as espécies, principalmente em relação aos animais HDL, onde atua sobre a síntese de ésteres de colesterol a partir de ácidos graxos insaturados que são menos predisponentes a formação de ateromas (CATANOZI, 2015).

Contudo é importante ressaltar, que devido o cão apresentar baixa atividade ou praticamente ausente expressão da CETP, ocorre a formação de moléculas de HDL1, que são únicas dos cães, mas foi relatada também em ratos, camundongos e suínos (WATSON e BARRIE, 1993; XENOULIS e STEINER, 2010; CRISPIN, 2016).

2.1.6. METABOLISMO LIPÍDICO DE ORIGEM EXÓGENA (Figura 3)

Os lipídeos ingeridos pela dieta são emulsificados e hidrolisados por lipases pancreáticas e intestinais no intestino delgado (WATSON e BARRIE, 1993; XENOULIS e STEINER, 2010).

Ocorre hidrólise e consequente liberação de ácidos graxos livres e monoglicerídeos, que chegam as microvilosidades da borda em escova da célula do epitélio intestinal e formam as micelas (WATSON e BARRIE, 1993; BAUER, 1996; XENOULIS e STEINER, 2010). Por difusão, as moléculas passam para os enterócitos e no interior dessas células os ácidos graxos livres e os mono-diglicerídeos são reesterificados produzindo o TG. Os triglicérides formados combinam-se com fosfolípidos, colesterol livre, ésteres de colesterol, Apo B 48 e formam os QM (WATSON e BARRIE, 1993; XENOULIS e STEINER, 2010). A síntese de ApoB 48 e de outras apolipoproteínas do grupo A, associada aos fosfolípidos formam a camada superficial do QM (SCARTEZINI et al., 2003).

Os QM após secretados são lançados na linfa intestinal através dos ductos lactíferos e, então, chegam a corrente sanguínea pelo ducto torácico (WATSON e BARRIE, 1993; GISNBERG, 1998; BAUER, 2004a; PASSARELLI, 2011), após o contato com a HDL na corrente sanguínea adquirem as apolipoproteínas CI, CII, CIII e ApoE (BAUER, 2004a; XENOULIS e STEINER, 2010). A ApoC II adquirida do HDL ativa a LPL, levando a hidrólise dos triglicérides contidos nos QM em ácidos graxos e glicerol, que serão armazenados no tecido adiposo ou serão captados pelo músculo e músculo cardíaco como fonte energética (WATSON e BARRIE, 1993; BAUER, 2004a; BAUER, 2004b; XENOULIS e STEINER, 2010).

Após esse processo, Apo CII, Apo CIII, fosfolípidos e colesterol livre são devolvidos para o HDL e os QM remanescentes são rapidamente removidos da circulação pelo fígado, através da ligação à ApoE (WATSON e BARRIE, 1993; GISNBERG, 1998; PASSARELLI, 2011), desse modo, assegura-se que o colesterol originário da dieta seja direcionado ao fígado, onde poderá ser armazenado, excretado na bile, convertido a ácidos biliares ou transportado via VLDL para outros tecidos (WATSON e BARRIE, 1993).

2.1.7. METABOLISMO LIPÍDICO DE ORIGEM ENDÓGENA (Figura 3)

VLDL, LDL, HDL são as principais lipoproteínas envolvidas nessa etapa, atuando como transportadores e sobre metabolismo de lipídios sintetizados na via endógena (BAUER, 2004a; XENOULIS e STEINER, 2010).

As VLDL são os principais carreadores de TG no período pós-absortivo, sendo sintetizados pelo fígado, entretanto, existem relatos de síntese intestinal. Os TG sintetizados na via endógena se combinam com o colesterol, ésteres de colesterol, fosfolípidos e com a ApoB 100 e ApoB 48 (somente em algumas espécies de animais como os cães, ratos e camundongos) para formar a VLDL (BAUER, 2004a; BAUER, 2004b; XENOULIS e STEINER, 2010).

A VLDL é liberada na corrente sanguínea e também recebe ApoC e ApoE do HDL (BAUER 2004a; XENOULIS e STEINER, 2010; CATANOZI, 2015).

A ApoC II da VLDL ativa a LPL assim como ocorre nos QM (WATSON e BARRIE, 1993; BAUER, 2004a; CATANOZI, 2015) levando a hidrólise dos TGs em ácidos graxos livres e glicerol e as VLDL remanescentes são removidas da circulação e captadas pelo fígado. Ainda nessa fase, as VLDLs também podem sofrer transformação e formar LDL, pela LPLH e pela LPL (WATSON e BARRIE, 1993; GINSBERG, 1998; BAUER,2004a; XENOULIS e STEINER, 2010).

As LDLs contêm, de forma predominante ésteres de colesterol e ainda uma molécula de ApoB100. Se ligam a receptores específicos, e, assim, o colesterol entregue a esses receptores são destinados a síntese de hormônios esteroides, síntese de membranas celulares e metabolismo hepático (WATSON e BARRIE, 1993; BAUER, 2004a; BAUER, 2004b; XENOULIS e STEINER, 2010).

As HDLs são as menores e, quando comparadas aos seres humanos são relativamente as mais abundantes lipoproteínas em cães e gatos (WATSON e BARRIE, 1993; BAUER, 2004b) e, de acordo com GINSBERG (1998), dados epidemiológicos indicam que altas concentrações de HDL colesterol estão associados ao baixo risco de doença aterosclerótica cardiovascular.

A HDL desempenha uma função inversa à da LDL, pois está envolvida no processo de remoção do colesterol excedente dos tecidos extra-hepáticos (CATANOZI, 2015) e, por esse motivo desempenha um papel importante na via de transporte reverso do colesterol em seres humanos e em animais (WATSON e BARRIE, 1993; BAUER, 2004b; XENOULIS e STEINER, 2010).

A principal ApoLP da HDL é a ApoA I, mas também apresenta concentração reduzida de ApoC, ApoE e traços de ApoA IV (SCARTEZINI et al, 2003).

A ApoA I é o cofator para a LCAT (BAUER, 2004b), porém existem relatos de ApoC I também. Sob a contínua ação da LCAT (vale ressaltar que a ApoA II pode inibir a LCAT) (BAUER, 2004a), o HDL se transforma em HDL3 (GISNBERG, 1998; SCARTEZINI et al. 2003; BAUER, 2004a; BAUER, 2004b; XENOULIS e STEINER, 2010, PASSARELLI, 2011).

A HDL3 continua a adquirir fosfolípidos e colesterol adicionais das membranas celulares e de componentes de superfície de lipoproteínas hidrolisadas, ricas em TGs (QM e VLDL), sendo convertidas em HDL2 que são partículas maduras e esféricas, esse processo também sofre ação da LCAT (XENOULIS e STEINER, 2010).

As HDL2 são maiores e apresentam maior concentração de colesterol do que as HDL3 (SCARTEZINI et al., 2003).

Em humanos a CETP intermedia a transferência de ésteres de colesterol da HDL para lipoproteínas carreadoras de TG (QM, QM remanescentes, VLDL) (BAUER, 2004a; BAUER, 2004b; CATANOZI, 2015), sendo rapidamente removidas pelo fígado (CATANOZI, 2015), dessa forma, permite a ligação aos receptores mediadores da captação de QM, VLDL remanescentes e LDL (WATSON e BARRIE, 1993) e assim, caracteriza o transporte reverso do colesterol pela via indireta e em troca a CETP transfere TG no sentido inverso, das lipoproteínas carreadoras de TG para as HDL (CATANOZI, 2015).

Os TG presentes nas partículas de HDL2, são removidos das partículas por meio da LPLH e retornam ao estado basal que é a HDL3 (WATSON e BARRIE, 1993; BAUER, 2004a; BAUER, 2004b).

Além disso, o transporte de ésteres de colesterol da HDL para o fígado, pode ocorrer diretamente, sem que haja participação de outras LPs no processo, que caracteriza a via direta do transporte reverso do colesterol (CATANOZI, 2015).

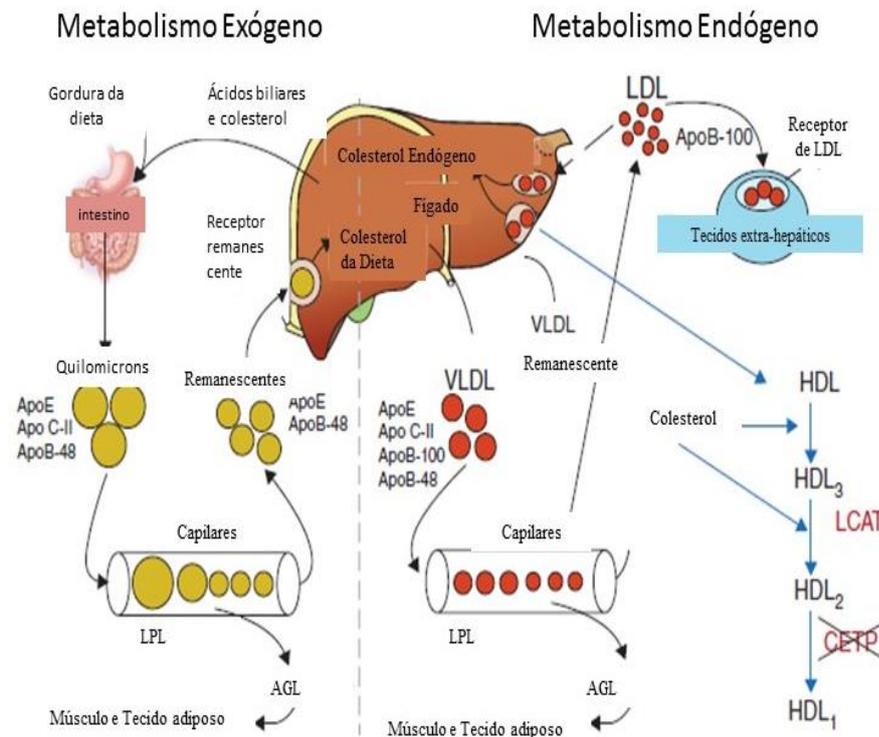
Cães não possuem CETP e, portanto, o HDL2 continua a adquirir ésteres de colesterol e ApoE para formar o HDL1 (WATSON e BARRIE, 1993; BAUER, 2004b; XENOULIS e STEINER, 2010).

Os ésteres de colesterol do HDL1 são transferidos dos tecidos para o fígado para estarem disponíveis ou serem reutilizados (XENOULIS e STEINER, 2010).

O HDL1 só estará aumentado na hipercolesterolemia severa dos cães (JOHNSON, 2005), porém têm-se sugerido que a presença dessa lipoproteína esteja relacionada com a

incidência da aterosclerose em cães, quando comparados com humanos pois desempenha um papel semelhante ao LDL nesta espécie (XENOULIS e STEINER, 2010).

Figura 3 - Metabolismo das lipoproteínas em cães. Fonte: XENOULIS e STEINER (2015), adaptado por ALBUQUERQUE, P. (2017)



2.2. HIPERLIPIDEMIA

Hiperlipidemia refere-se ao aumento das concentrações de lipídeos no sangue. Esse aumento pode ser somente de colesterol (hipercolesterolemia), de triglicérides (hipertrigliceridemia) ou de ambos (hiperlipidemia mista) (XENOULIS e STEINER, 2010; DODKIN e PAPASOULIOTIS, 2015). Por outro lado, dislipidemia refere-se a qualquer tipo de distúrbio que altere as características dos lipídeos e das lipoproteínas e não somente ao aumento das concentrações de lipídeos no sangue (XENOULIS e STEINER, 2015)

O termo hiperlipoproteinemia significa aumento das concentrações sanguíneas das lipoproteínas, mas essa denominação deveria ser usada apenas quando as lipoproteínas são

avaliadas. O termo mais frequentemente utilizado é a hiperlipidemia (JOHNSON, 2005; XENOULIS e STEINER, 2015).

O termo lipemia é usado para descrever o aspecto turvo ou leitoso do soro ou plasma sanguíneo (JOHNSON, 2005; XENOULIS e STEINER, 2015) (**Figuras 4 e 5 e 6**), resultante da hipertrigliceridemia ou hiperquilomicronemia, mas não da hipercolesterolemia e é aparente quando as concentrações de TG são superiores a 200 mg/dL (BARRIE et al., 1993; DODKIN e PAPASOULIOTIS, 2015; XENOULIS e STEINER, 2015).

Figura 4: Lipemia no plasma. Fonte: ALBUQUERQUE, P (2015).



Figura 7: Lipemia no soro. Fonte: Albuquerque, P (2015).



Figura 8: Comparação entre as amostras de soro, a primeira de um cão normal e as demais apresentam lipemia. Fonte: ALBUQUERQUE, P (2015).



2.2.1. MENSURAÇÃO DE LIPÍDEOS E LIPOPROTEÍNAS

O teste de refrigeração de QM é realizado em amostras lipêmicas e é simples para determinar, de forma específica, qual lipoproteína é a responsável pela hipertrigliceridemia (JOHNSON, 2005). A amostra de soro é refrigerada e deixada em repouso por 10 a 12 horas, sendo assim, como os QM são de baixa densidade se movimentam para a superfície da amostra e formam uma camada cremosa. Quando essa camada se forma o soro abaixo pode estar de coloração clara ou turva (JOHNSON, 2005; XENOULIS e STEINER, 2010; DODKIN e PAPASOULIOTIS, 2015). Se após esse período em refrigeração o soro permanecer leitoso e não formar a camada cremosa na superfície é por predomínio de VLDL (FORD e LUDLOW, 2010).

A eletroforese de LP pode indicar aumento da quantidade das diferentes classes de lipoproteínas e pode também auxiliar na detecção de lipoproteínas anormais, esse método é semelhante ao utilizado para eletroforese de proteínas plasmáticas (WHITNEY, 1992) e de acordo com Dodkin e Papasouliotis (2015), se baseia nas diferenças de tamanhos e de carga elétrica das partículas das LP, e possibilita a separação das LP em até quatro frações.

A ultracentrifugação pode proporcionar a medida quantitativa de cada uma das classes de lipoproteínas (NELSON e COUTO, 2010). Porém, em razão das diferentes propriedades físico-químicas das respectivas partículas de LP, pode ocorrer importante sobreposição, o que torna muitas vezes impossível a separação adequada, sendo necessária a utilização de metodologias diferentes em associação para obter o isolamento (DODKIN e PAPASOULIOTIS, 2015).

Xenoulis et al. (2013) utilizaram o método de densidade de ultracentrifugação com gradiente, usando NaBiEDTA (ácido etilenoamonotetracético bismuto sódico) e o classificou como um método de rastreio rápido, preciso e adequado para o estudo do perfil de LP em cães, pois trata-se de uma técnica que pode ser utilizada para fins de diagnóstico para a separação de cães com suspeita de anormalidades nas lipoproteínas de cães saudáveis. Importantes diferenças nos perfis das LP podem ser detectadas com este método, mesmo entre cães que apresentem concentração de TG e de colesterol sérica dentro do intervalo de referência.

É importante ressaltar que a lipemia presente em animais com hiperlipidemia/dislipidemia, pode resultar em alterações na dosagem de muitos analitos tanto no soro como no plasma (XENOULIS e STEINER, 2015). Essa lipemia, pode interferir na mensuração da bilirrubina direta que resultará em moderado aumento, pode reduzir as concentrações de cloreto, amilase, lipase e, ainda, pode interferir diretamente na proteína plasmática e na hemoglobina. O excesso de QM pode causar falsa redução, principalmente, nos eletrólitos (BAUER, 1995; BAUER, 2004a).

O tamanho das lipoproteínas, composição e concentração podem ser quantificadas num perfil de lipoproteínas. Esses perfis geralmente são baseados no método de FPLC (*Fast protein liquid chromatography*), no qual as lipoproteínas são separadas por tamanho, tanto no soro como no plasma. As frações adquiridas são subsequentemente analisadas por métodos bioquímicos que quantificam os lipídeos e as proteínas (SIPS et al., 2014).

A lipemia pode causar hemólise “*in vitro*” e esse fenômeno é determinado pelo efeito dos lipídeos sobre a membrana dos eritrócitos que se encontram osmoticamente frágeis (FORD, 1996; FORD e LUDLOW, 2010; BEHLING-KELLY e COLLINS-CRONKRIGHT, 2014). No estudo realizado por BEHLING-KELLY e COLLINS-CRONKRIGHT (2014) foi sugerido que a hemólise também poderia ocorrer “*in vivo*”.

2.2.2. CLASSIFICAÇÃO DA HIPERLIPIDEMIA

Os 3 tipos de hiperlipidemia são: fisiológica (pós-prandial), secundária (a doenças ou a administração de medicamentos) e a primária (familiar) (DODKIN e PAPASOULIOTIS, 2015).

2.2.2.1. HIPERLIPIDEMIA FISIOLÓGICA OU PÓS-PRANDIAL

A Hiperlipidemia pós-prandial é fisiológica e transitória pois se resolve em 7 a 12 horas após a refeição e vai depender da quantidade de gordura ingerida pela dieta (BAUER, 2004b; XENOULIS e STEINER, 2015) e, por esse motivo, a determinação da concentração de lipídeos séricos deve ser realizada com jejum de 12 horas, contudo, Xenoulis e Steiner (2015) indicaram jejum de 15 horas antes da avaliação da hiperlipidemia em cães.

Se a hiperlipidemia persistir após o jejum adequado, é sempre considerado anormal e pode ter como causas o aumento da produção de QM, aumento na produção de VLDL ou ainda, pela eliminação ineficaz das partículas de VLDL (JOHNSON, 2005; XENOULIS e STEINER, 2010).

De acordo com Reis et al. (2011), mesmo após a ingestão de uma dieta com alto teor de gordura, não se espera que as concentrações séricas de TG excedam 500 mg/dL em animais saudáveis. Concentrações séricas de TG superiores a 1000 mg/dL, em jejum ou não, geralmente são decorrentes de transtornos no metabolismo lipídico.

De modo geral, deve-se suspeitar de hiperlipidemia quando as concentrações séricas de colesterol e triglicérides em cães adultos excederem, 300 mg/dL e 150 mg/dL, respectivamente, após jejum de 12 horas. Quase sempre a hiperlitrigliceridemia é diagnosticada, macroscopicamente, por achado de lipemia na amostra de sangue (NELSON E COUTO, 2010).

2.2.2.2. HIPERLIPIDEMIA SECUNDÁRIA

A hiperlipidemia de jejum persistente é sempre considerada anormal e muito frequente em cães com alterações secundárias a outras doenças, como, endocrinopatias, pancreatite, obesidade, síndrome nefrótica, colestase hepática (XENOULIS e STEINER, 2010; CATANOZI, 2015) ou ainda, secundária a utilização de alguns medicamentos, dentre eles o Fenobarbital.

2.2.2.2.1. ENDOCRINOPATIAS

➤ HIPOTIREOIDISMO

Os hormônios tireoidianos estimulam o metabolismo lipídico, como a síntese, mobilização e degradação (DIXON et al., 1999; SCOTT- MONCRIEFF, 2015) e no hipotireoidismo tanto a síntese como a degradação de lipídios tornam-se comprometidas (DIXON et al, 1999; MOONEY e SHIEL, 2015; SCOTT- MONCRIEFF, 2015).

Devido ao decréscimo do metabolismo dos lipídeos, ocorre também redução na conversão destes em ácidos biliares (CRUZ e TAVARES-MANOEL, 2015)

A hipercolesterolemia de discreta a acentuada é comum e pode estar presente em até 80% dos cães (BAUER, 2004b; MOONEY e SHIEL, 2015). As concentrações de colesterol, VLDL, LDL e HDL normalmente estarão aumentadas (SCOTT- MONCRIEFF, 2015). Além disso, os animais com hipotireoidismo também podem apresentar aumento na concentração de triglicérides, conforme o estudo realizado por Dixon et al. (1999), em que os animais com hipotireoidismo apresentavam hipertrigliceridemia, associada.

A redução dos hormônios tireoidianos, diminuem a atividade do receptor de LDL hepático e reduz a atividade da LPL (NAKANDAKARE, 2011; CATANOZI, 2015; SCOTT- MONCRIEFF, 2015). O catabolismo do VLDL também pode estar reduzido devido a menor atividade da LPL e a LPLH está aumentada, e ocorre redução da concentração de HDL (NAKANDAKARE, 2011; CATANOZI, 2015).

Os animais hipotireoideos apresentam maior chance de desenvolver aterosclerose (FORD e LUDLOW, 2010; SCOTT- MONCRIEFF, 2015) e, após tratamento do hipotireoidismo, as anormalidades lipídicas diminuem (XENOULIS e STEINER, 2010; CATANOZI, 2015).

➤ DIABETES MELLITUS

A concentração de colesterol e de triglicérides está aumentada, principalmente em animais recém diagnosticados. A insulina é o mais potente inibidor da lipólise e da β -oxidação

(NELSON, 2015) e, por esse motivo, a deficiência reduz a atividade da LPL e ativa a lipase hormônio sensível (LHS) (PÖPPL e ELIZEIRE, 2015, DAVISON, 2015; NELSON, 2015). A produção de VLDL hepática está aumentada e o *clearance* da VLDL está diminuído (NELSON, 2015).

O aumento do colesterol intra-hepático diminui a expressão do receptor de LDL dos hepatócitos e reduz a depuração do LDL e do HDL que levam a hipercolesterolemia (NELSON, 2015).

A frequência de aterosclerose e doença coronariana é muito pouco frequente em cães devido a presença de mais HDL do que LDL, ao passo que nos seres humanos, está presente e são as principais complicações apresentadas no diabetes dessa espécie (NELSON, 2015). A hiperlipidemia do diabetes em cães melhora com a terapia insulínica e com o manejo alimentar (FORD e LUDLOW, 2010; XENOULIS e STEINER, 2010; NELSON, 2015).

➤ OBESIDADE

A obesidade é a desordem nutricional mais comum encontrada em cães e gatos e ocorre quando o consumo energético é maior do que a demanda energética (JEUSETTE et al., 2005; CATANOZI, 2015). Alguns fatores podem estar relacionados com essa desordem, como a raça, sexo, idade, fatores genéticos, atividade física e a dieta com maior teor de gordura (JERICÓ et al., 2009; BRUNETTO et al., 2011).

O estudo realizado por MORI et al. (2011), concluiu que a presença da hiperlipidemia em obesos era mais evidente nos animais com idade acima de 8 anos, e que a alteração mais frequente era a hipercolesterolemia.

Brunetto et al. (2011), demonstraram que as fêmeas castradas e com idade acima de sete anos, eram mais predispostas a obesidade e também a apresentar hiperlipidemia.

A resistência insulínica provocada pela obesidade eleva a concentração de VLDL-TG e HDL-TG, reduz a concentração de HDL-C (JEUSETTE et al, 2005; JERICÓ et al., 2009), além de estimular a LHS que aumenta a concentração de ácidos graxos livres (JERICÓ et al, 2009).

De acordo com Brunetto et al. (2011), a obesidade influencia no metabolismo de gorduras, e resulta em animais com hiperlipidemia, mas não tão intensa e nesse estudo realizado, os valores mais elevados não se situaram na faixa de risco a saúde.

➤ HIPERADRENOCORTICISMO

Tanto o hiperadrenocorticismismo como o hiperadrenocorticismismo iatrogênico, estão associados com a hiperlipidemia (XENOULIS e STEINER, 2010).

A maior parte dos animais diagnosticados com hiperadrenocorticismismo, apresentam hiperlipidemia, seja por aumento do colesterol e/ou triglicérides ou por aumento de ambos (BEHREND, 2015; DE MARCO, 2015b; HERRTAGE e RAMSEY, 2015). Tais alterações, estão relacionadas com a lipólise (BEHREND, 2015) da gordura visceral devido ao aumento da atividade da LHS e ao déficit na remoção dos triglicérides ocasionados pela inibição da LPL (DE MARCO, 2015b)

A administração de glicocorticoides aumenta a concentração de triglicérides plasmático, por aumentar a síntese e secreção de VLDL hepático. Em animais com obesidade visceral, como ocorre no hiperadrenocorticismismo, a resistência insulínica ocasionada reduz a atividade da LPL e conseqüentemente, diminui o *clearance* de VLDL plasmático (JERICÓ et al., 2009).

2.2.2.2. SÍNDROME NEFRÓTICA

A hiperlipidemia pode ser detectada em pacientes com proteinúria conseqüente de glomerulonefrite ou amiloidose (FORD e LUDLOW, 2010). É uma seqüela muito bem documentada das nefropatias que causam a perda de proteínas (FURROW et al., 2016). Associada com a hipercolesterolemia em cães (XENOULIS e STEINER, 2010; BEHLING-KELLY, 2014), como conseqüência de aumento potencial na síntese de lipoproteínas em resposta ao aumento da pressão oncótica (BEHLING-KELLY, 2014). É causada pela maior síntese hepática e menor catabolismo de ApoLP e LP. Além disso, a hipoalbuminemia presente na síndrome nefrótica estimula a síntese hepática de VLDL, reduz o catabolismo hepático de lipoproteínas e diminui a atividade da LPL (CATANOZI, 2015; FURROW et al., 2016).

Em humanos, a LCAT, que passa a ser eliminada na urina contribui para redução da HDL no plasma (NAKANDAKARE, 2011). Segundo Behling-Kelly (2014), também ocorre redução da HDL em cães e ainda, ocorre aumento de LDL, sendo similar ao que acontece em seres humanos com síndrome nefrótica.

Portanto, as mudanças que ocorrem nas lipoproteínas podem ser fatores contribuintes para a piora do ciclo de injúria oxidativa e inflamação renal (BEHLING-KELLY, 2014).

2.2.2.3. PANCREATITE

De acordo com Xenoulis et al (2011), a presença de hipertrigliceridemia em cães com pancreatite pode ser causa de uma desordem no metabolismo lipídico pré-existente, que pode ou não estar relacionada com essa doença. Porém existem evidências de que a hipertrigliceridemia severa (> 1000 mg/dL) é um fator de risco para pancreatite em cães (XENOULIS e STEINER, 2015)

Em modelos experimentais a hiperlipidemia não ocorreu após a indução da pancreatite e a pancreatite também não ocorreu pela indução de hipertrigliceridemia (XENOULIS e STEINER, 2010).

Cães com pancreatite aguda apresentam hipertrigliceridemia caracterizada por aumento de QM e VLDL, podendo estar associada à hipercolesterolemia moderada. Acredita-se que o aumento da concentração de ácidos graxos livres provenientes do metabolismo dos TG, em situação de hipertrigliceridemia, seja tóxico ao pâncreas e, a menor atividade da LPL diminui a taxa de hidrólise de TG contidos no QM e no VLDL, essas alterações permitem que essas LPs permaneçam mais tempo no plasma e, conseqüentemente, ocorra a hipertrigliceridemia (CATANOZI, 2015).

2.2.2.4. COLESTASE HEPÁTICA

A colestase hepática, independente da causa, pode resultar em hipercolesterolemia de discreta a moderada (JOHNSON, 2005).

Em seres humanos, a colestase permite a formação de uma lipoproteína anormal, denominada Lipoproteína X (STEPIEN et al., 2013; VIVEROS et al., 2014; JANKOWSKI, et al., 2015). Apresenta características muito diferentes das lipoproteínas que se encontram no soro/plasma, pois são partículas que se assemelham ao VLDL em tamanho, mas com densidade

que se assemelha ao LDL. A patogênese nesses casos ainda não está bem elucidada, mas normalmente o fígado excreta complexos de lipoproteínas na bile, com fosfolípidos e colesterol não esterificado, dessa forma, quando ocorre refluxo da bile resultante da colestase ocorre a formação da lipoproteína X (CROOK, 2013; STEPIEN et al., 2013; VIVEROS et al., 2014).

A lipoproteína X também pode ser encontrada quando existe deficiência de LCAT e ela atua sobre a LDL, o que resulta em diminuição do potencial aterogênico por evitar a sua oxidação (CROOK, 2013; JANKOWSKI, et al., 2015).

2.2.2.5. FENOBARBITAL

É o medicamento mais comumente utilizado para controle de convulsões em cães e muitos que fazem uso por um período prolongado apresentam hipertrigliceridemia. O fenobarbital aumenta a produção de VLDL hepática e diminui a atividade da lipase de lipoproteínas (KLUGER et al., 2008).

2.2.3. HIPERLIPIDEMIA PRIMÁRIA IDIOPÁTICA

Deve-se suspeitar de hiperlipidemia idiopática quando as causas secundárias forem descartadas (NELSON, 1998; XENOULIS et al., 2007).

A hiperlipidemia primária melhor caracterizada no cão é a que ocorre nos animais da raça Schnauzer miniatura e está relacionada a fatores hereditários (XENOULIS et al., 2007; DODKIN e PAPASOULIOTIS, 2015), apesar de ter sido melhor caracterizada nessa raça a hiperlipidemia familiar foi descrita em outras raças como, Pastor de Shetland (MORI et al., 2010), Bull terrier (REIS et al., 2011), Briards, Rough collie (DODKIN e PAPASOULIOTIS, 2015), Dobermand e Rottweillers, porém todas essas raças estão relacionadas com hipercolesterolemia (XENOULIS e STEINER, 2010; REIS et al., 2011), também há relato de que a raça Beagle também pode apresentar hipertrigliceridemia familiar (XENOULIS e STEINER, 2010; DODKIN e PAPASOULIOTIS, 2015).

Em seres humanos, as causas de hipertrigliceridemia primária são bem documentadas. A hipertrigliceridemia familiar, deficiência da LPL e a deficiência de ApoC II, são desordens genéticas que causam aumento das concentrações de TG pelo aumento do VLDL, do QM ou de ambos (XENOULIS et al., 2007).

2.3. HIPERLIPIDEMIA PRIMÁRIA DO SCHNAUZER

Como já relatado anteriormente, a hiperlipidemia primária do Schnauzer pode ser relacionada a fatores genéticos e familiares (XENOULIS et al., 2007; MORI et al., 2010; DODKIN e PAPASOULIOTIS, 2015), porém sua etiologia ainda não foi bem estabelecida (XENOULIS e STEINER, 2015).

A hiperlipidemia do Schnauzer é caracterizada por acúmulo anormal de VLDL ou pela combinação de VLDL e QM (XENOULIS et al., 2007; REIS et al., 2011; XENOULIS e STEINER, 2015), e a hipercolesterolemia nem sempre está associada (XENOULIS et al., 2007; XENOULIS e STEINER, 2015).

Dentre as possíveis causas da hiperquilomicronemia estão a atividade deficiente da LPL, enzima responsável pela hidrólise do TG presentes nos QM e VLDL e a ausência de ApoC II, que é o principal ativador da LPL (FORD, 1993).

A causa de hiperlipidemia do Schnauzer miniatura ainda não foi identificada, mas uma das possíveis explicações da hipertrigliceridemia primária seria a deficiência da LPL, nos animais com hipertrigliceridemia. No entanto, um estudo molecular realizado em Schnauzers com hiperlipidemia não revelou mutações no gene da LPL, e sugere que uma disfunção genética da LPL não deveria ser a causa da hipertrigliceridemia primária nesta raça (XENOULIS et al., 2007; XENOULIS e STEINER, 2010; REIS et al., 2011).

2.3.1. ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

A hipertrigliceridemia primária é comum em Schnauzers dos Estados Unidos, sendo encontrada em 63 animais (32,8%) de 192 em um estudo realizado por Xenoulis et al. (2008).

Mais de 75% dos animais que apresentavam idade acima de 9 anos de idade, apresentaram aumento nos níveis séricos de triglicérides, isso demonstra, que o risco de desenvolvimento da hiperlipidemia e a severidade aumenta com a idade (XENOULIS et al., 2007; MORI et al., 2010; XENOULIS e STEINER, 2010). Embora não seja comum, alguns Schnauzers jovens podem apresentar hipertrigliceridemia (XENOULIS et al., 2007).

No estudo realizado por Xenoulis et al. (2007), a hiperlipidemia acometeu machos e fêmeas na mesma proporção e ainda, verificou-se que os animais castrados teriam mais hipertrigliceridemia do que os animais inteiros, porém, nesse estudo foi verificado também que a prevalência de hiperlipidemia nos animais castrados ocorria de acordo com a idade do animal.

É recomendado que todos os Schnauzers sejam avaliados para hiperlipidemia enquanto ainda estão saudáveis (XENOULIS et al., 2007; XENOULIS e STEINER, 2010).

2.3.2. MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS E CONSEQUÊNCIAS DA HIPERLIPIDEMIA PRIMÁRIA

Os animais com hiperlipidemia primária podem ser assintomáticos por longos períodos ou até mesmo por toda a vida (XENOULIS e STEINER, 2010; REIS et al., 2011; DE MARCO et al. 2017). Manifestações clínicas que podem ocorrer nos casos de hipertrigliceridemia crônica incluem: vômitos, diarreia, distensão e dor abdominal, inquietação, hepatomegalia, xantoma cutâneo, xantogranuloma miliar, paralisia de nervos periféricos, convulsões, mudanças de comportamento e lipemia retiniana (WATSON e BARRIE, 1993).

A hiperlipidemia pode alterar a viscosidade plasmática e afetar o sistema nervoso central, e, ainda pode causar alterações do ouvido interno (VILATY e OLBY, 2007).

Já nos casos de hipercolesterolemia, os sintomas são mais discretos e se manifestam após hipercolesterolemia grave e sustentada há mais de 6 meses, predispondo a um maior risco de desenvolver aterosclerose, lesão endotelial e disfunções cardiovasculares, tais como

comprometimento da aorta, artérias coronárias, renais, cerebrais e periféricas. (SCHENCK, 2002).

É importante ressaltar que a hiperlipidemia aumenta o risco de pancreatite, hepatopatias, oftalmopatias, distúrbios neurológicos, diabetes *mellitus* e mucocele da vesícula biliar (REIS et al., 2011; XENOULIS et al., 2011).

A hipertrigliceridemia é um fator de risco para pancreatite, principalmente, quando os níveis plasmáticos de triglicérides excedem 1000 mg/dL, porém não existem evidências de que a hipercolesterolemia pode aumentar o risco da doença (XENOULIS e STEINER, 2010; XENOULIS et al., 2011; XENOULIS e STEINER, 2015). Sugere-se que a lipase pancreática hidrolise os triglicérides e produzam grande quantidade de ácidos graxos livres que podem ser tóxicos para o pâncreas (XENOULIS e STEINER, 2010).

A hipertrigliceridemia tem sido associada com a infiltração gordurosa no fígado, devido a um depósito excessivo de lipídeos nos hepatócitos com ou sem inflamação, fibrose ou cirrose. (XENOULIS et al., 2008) e, ocorre também acúmulo de glicogênio (XENOULIS e STEINER, 2015). Portanto, o aumento das enzimas hepáticas pode estar relacionado com essa alteração, nos Schnauzers, sendo a fosfatase alcalina a principal enzima afetada, seguida da enzima ALT que também pode apresentar aumento (XENOULIS et al., 2008; XENOULIS e STEINER, 2015).

A mucocele da vesícula biliar está relacionada com a hiperlipidemia na raça Schnauzer (XENOULIS et al., 2008; KUTSUNAI et al., 2014; XENOULIS e STEINER, 2015) e, mesmo sem manifestar sintomas, podem ser fatais (XENOULIS e STEINER, 2010).

Em humanos, a hipertrigliceridemia grave está normalmente relacionada a resistência insulínica e desenvolvimento de diabetes *mellitus*, sendo um fator importante para predisposição da Síndrome Metabólica, doenças da vesícula biliar, hipertensão e doenças cardiovasculares (BOLAND et al, 2002; REAVEN, 2004), além disso, um estudo realizado por De Marco et al. (2013), demonstrou que as alterações nas enzimas hepáticas foram identificadas em quase 40% dos animais hiperlipidêmicos e a resistência insulínica ocorreu em 90% dos casos e os Schnauzers hiperlipidêmicos podem apresentar evidências de resistência insulínica devido a hiperinsulinemia compensatória.

No estudo realizado por Xenoulis et al, (2011), verificou-se que a insulina sérica apresentava aumento significativo nos Schnauzers hiperlipidêmicos, além disso, esses animais tinham maior tendência a se tornarem diabéticos.

A aterosclerose também pode ser consequência da hiperlipidemia, porém está relacionada com a hipercolesterolemia, geralmente secundária ao hipotireoidismo ou

secundária a diabetes *mellitus* (VITALE e OLBY, 2007; XENOULIS e STEINER, 2010; XENOULIS e STEINER, 2015). A hipercolesterolemia associada à dieta pode acelerar o desenvolvimento de aterosclerose tanto em humanos como em animais (CATANOZI, 2015).

2.3.3. DIAGNÓSTICO

De forma geral, considera-se hipercolesterolemia quando as concentrações séricas de colesterol se encontram acima de 300 mg/dL e a de triglicérides acima de 150 mg/dL, após 12 horas de jejum alimentar. A concentração sérica de colesterol entre 300 e 500 mg/dL é considerado aumento discreto, entre 500 mg/dL a 750 mg/dL aumento moderado e valores acima de 750 mg/dL aumento grave. No caso do TG, de 150 a 400 mg/dL é considerado um aumento discreto, entre 400 a 1000 mg/dL moderadamente elevado e os valores acima de 1000 mg/dL é um aumento muito grave (JOHNSON, 2005).

Testes hormonais são necessários para excluir as endocrinopatias. Com finalidade de excluir hiperadrenocorticismos, os exames de Supressão com baixa dose de dexametasona e o teste de estimulação com ACTH devem ser realizados. O teste de supressão com dexametasona, demonstra a diminuição da sensibilidade do eixo-hipotálamo-hipófise-adrenal ao *feedback* negativo do glicocorticoide, é um teste de alta sensibilidade e alta especificidade (BEHREND, 2015) e se baseia na avaliação do cortisol, 8 horas após a aplicação da dexametasona. O teste de estimulação com ACTH avalia a reserva adrenal, sendo o teste ouro para excluir hiperadrenocorticismos iatrogênicos, a desvantagem em relação ao teste de supressão com baixa dexametasona é a baixa sensibilidade (BEHREND et al., 2013; BEHREND, 2015).

A exclusão do hipotireoidismo, pode ser realizada pela dosagem do T4 livre por diálise de equilíbrio e do TSH. O T4 livre por diálise de equilíbrio é o teste ouro para diagnóstico (SCOTT-MONCRIEFF, 2015) e avalia a fração de hormônio disponível para os tecidos (MOONEY e SHIEL, 2015). O TSH avaliado deve apresentar valores aumentados em animais com hipotireoidismo (MOONEY e SHIEL, 2015), porém aproximadamente 40% dos animais apresentam TSH dentro dos valores de referência e, portanto, não deve ser avaliado se não estiver associado com o T4 livre (SCOTT-MONCRIEFF, 2015).

O diabetes deve ser excluído após a avaliação dos níveis de glicose no sangue e do exame de urina que verifica a presença de glicosúria (NELSON, 2015).

A síndrome nefrótica pode ser excluída pela avaliação da proteinúria, relação proteína-creatinina urinária, e em humanos a biópsia renal é indicada (SEIGNEUX e YVES MARTIN, 2009).

2.3.4. TRATAMENTO

O primeiro passo para o tratamento da hiperlipidemia é determinar se a alteração é primária ou secundária (JOHNSON, 2005; XENOULIS e STEINER, 2010; DE MARCO, 2015a), devem ser realizados exames para descartar todos os diagnósticos diferenciais que poderiam causar hiperlipidemia secundária. Se a hiperlipidemia não for resolvida após tratamento inicial, deve-se considerar um diagnóstico errado, tratamento ineficaz ou hiperlipidemia primária ou secundária concomitante a outras causas (WHITNEY,1992; XENOULIS E STEINER, 2010; CATANOZI, 2015).

2.3.4.1. TERAPIA DA HIPERLIPIDEMIA

A primeira etapa na terapia da hiperlipidemia primária consiste na modificação da dieta (CATANOZI, 2015; XENOULIS e STEINER, 2015). Animais com esse tipo de alteração metabólica devem ser cronicamente mantidos em dieta com reduzidas concentrações lipídicas (CATANOZI, 2015).

O manejo dietético da hiperlipidemia é aplicado com maior frequência em casos de hiperlipidemia primária, ao passo que a secundária pode ser amenizada ou solucionada com a correção dos distúrbios primariamente envolvidos e esses animais também podem se beneficiar com o manejo da dieta. Além disso, o alimento é o elemento mais importante no manejo da hiperlipidemia primária, já que os QM ricos em TG são produzidos a partir da gordura da dieta (REIS et al., 2011).

A dieta com baixa gordura ajuda a reduzir o colesterol plasmático através da redução da quantidade de colesterol e gorduras saturadas liberadas para o fígado e ainda, estimula a

atividade dos receptores de LDL com redução do colesterol, conseqüentemente (WATSON e BARRIE, 1993).

Segundo De Marco (2015a), a concentração da gordura na dieta deve ser inferior a 8%, e a proteína deve ser superior a 18% e devem ser calculados em relação a energia metabolizável e não em relação a matéria-seca.

Após o envelhecimento do animal, a hiperlipidemia pode se tornar mais severa e muitas vezes pode ser necessária a utilização de alimentos com baixíssima gordura (REIS et al., 2011).

As dietas com baixa quantidade de proteínas podem elevar os níveis de colesterol e devem ser evitadas a menos que seja extremamente necessária (DE MARCO, 2015a).

As fibras da dieta agem sobre a absorção da glicose, melhoram a atividade do receptor de insulina (DE MARCO, 2015a), atuam sobre a reabsorção intestinal dos ácidos biliares e fazem com que o fígado utilize o colesterol para sintetizá-los (FORD e LUDLOW, 2010; REIS, et al, 2011; DE MARCO, 2015a).

As concentrações de lipídeos séricos devem ser reavaliadas 4 a 8 semanas após a instituição de dieta com baixa gordura. Se a concentração sérica de TGs for menor do que 500 mg/dL, a terapia dietética deve ser continuada e mantida para o resto da vida e os TGs séricos devem ser reavaliados a cada 6 a 12 meses (XENOULIS e STEINER, 2010; XENOULIS e STEINER, 2015).

Alguns cães com hiperlipidemia primária não responderão corretamente a uma dieta de baixa ou de ultrabaixa gordura e nesse caso o tratamento medicamentoso se faz necessário com o intuito de reduzir efetivamente a concentração sérica dos lipídeos (FORD, 1993; WATSON e BARRIE, 1993; XENOULIS e STEINER, 2010; XENOULIS e STEINER 2015).

2.3.4.2. TERAPIA MEDICAMENTOSA

2.3.4.2.1. NIACINA OU ÁCIDO NICOTÍNICO

Trata-se de uma vitamina B (vitamina B3) (REIS et al., 2011; NAKANDAKARE, 2011; XENOULIS e STEINER, 2015), que em dose farmacológica melhora o perfil lipídico, sendo utilizada em humanos por muitos anos (NAKANDAKARE, 2011).

Em cães existem poucos estudos da utilização da Niacina para tratamento da hiperlipidemia primária, mas os estudos existentes demonstraram que o medicamento reduziu a concentração de triglicérides por alguns meses. Está associada a efeitos colaterais como prurido e eritema e à longo prazo miotoxicidade e hepatotoxicidade (XENOULIS e STEINER, 2015).

Mecanismos de ação em seres humanos: inibe a lipase hormônio sensível, resultando na menor liberação de ácidos graxos livres para o fígado e promovendo queda na formação de VLDL, estimula a LPL e a geração de HDL; reduz as LDL pequenas e densas que são mais aterogênicas, aumenta diretamente a síntese de ApoA I e não altera o catabolismo de ApoA I (NAKANDAKARE, 2011).

De acordo com Reis et al. (2011), existem indícios de que a Niacina inibe a síntese endógena do colesterol.

A dose sugerida para tratamento é de 50 a 200 mg/dia (BAUER, 1995; JOHNSON, 2005; REIS et al., 2011; XENOULIS e STEINER, 2015), a ação terapêutica e os efeitos colaterais são dose-dependentes e, portanto, deve-se iniciar o tratamento com a menor dose possível (XENOULIS e STEINER, 2015) mas atualmente tem sido muito pouco utilizada (XENOULIS e STEINER, 2010).

2.3.4.2.2. FIBRATOS

São fármacos derivados do ácido fíbrico, indicados no tratamento da hipertrigliceridemia resistente a meios não farmacológicos (NAKANDAKARE, 2011), principalmente nos casos em que a dieta não se mostra eficaz (JERICÓ e MASCHIETTO, 2003).

De acordo com Jericó e Maschietto (2003), são eficazes na maioria dos tipos de dislipidemias, tanto nas primárias como nas secundárias.

Fazem parte deste grupo: Clofibrato, Bezafibrato, Fenofibrato, Ciprofibrato, Gemfibrozila e Etofibrato (NAKANDAKARE, 2011; CATANOZI, 2015).

Eles exercem seus efeitos ativando receptores nucleares PPAR (receptores proliferadores-ativadores de peroxissomos) que modulam o metabolismo lipídico (síntese de lipídeos/lipoproteínas e catabolismo) (CATANOZI, 2015; TENEMBAUM e FISMAN, 2012; TIWARI e KHOKAR, 2014), dessa forma, estimulam a oxidação hepática de AGL, desviando-

os da via da síntese hepática do VLDL, reduz o triglicérides (TENEMBAUM e FISMAN, 2012) e aumenta o HDL (TENEMBAUM e FISMAN, 2012; DE MARCO et al., 2017). A ativação dos receptores também ativa a expressão dos genes da LPL (CATANOZI, 2015; XENOULIS e STEINER, 2015; DE MARCO et al., 2017) e, portanto, a diminuição da hipertrigliceridemia ocorre, devido à diminuição da síntese e ao aumento da hidrólise do TG (CATANOZI, 2015).

Em humanos a ativação do PPAR também reduz o recrutamento e adesão de células mononucleares do endotélio, diminuindo a inflamação da placa aterosclerótica e proliferação de células musculares lisas (TIWARI e KHOKAR, 2014).

A Gemfibrozila foi o primeiro fibrato usado em cães com hipertrigliceridemia porém não existem estudos avaliando a sua eficácia e segurança em cães e a sua utilização tem sido associada a vários efeitos colaterais, como vômito, diarreia e diminuição do apetite (DE MARCO et al., 2017).

Com relação a ação do bezafibrato, é demonstrado que esse fármaco é um pan-agonista para os 3 subtipos de receptores PPAR (α , γ , β) (TENEMBAUM e FISMAN, 2012).

No estudo realizado por De Marco et al. (2013), foi possível concluir que o Bezafibrato é seguro e efetivo para o tratamento da hiperlipidemia canina e não foram encontrados efeitos adversos como miopatia e aumento da creatina quinase (CK) nem no ALT como ocorre em humanos.

Em um estudo realizado por SERISIER et al. (2009) em cães obesos da raça Beagle, avaliou o Fenofibrato e demonstrou-se que esse fármaco é capaz de reduzir a hiperlipidemia.

A dose da Gemfibrozila é de 10 mg/kg/BID (BAUER, 1995; CATANOZI, 2015; XENOULIS e STEINER, 2015).

O Bezafibrato pode ser utilizado na dose de 2,5 mg/ BID (JERICÓ e MASCHIETTO, 2003) ou 5 mg/kg/ SID (DE MARCO e NORONHA, 2009), por via oral e o Fenofibrato pode ser utilizado também por via oral, na dose de 10 mg/Kg/ SID (SERESIER et al., 2009).

2.3.4.2.3. ESTATINAS

As Estatinas inibem, reversivelmente, a atividade da HMGCOA (3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A) redutase, enzima crítica na síntese de colesterol, a qual é inibida pelo conteúdo de colesterol celular. A diminuição resultante e transitória do colesterol intracelular causa uma superregulação do receptor LDL e resulta então em aumento da depuração

plasmática de LDL e, em menor proporção, de VLDL e IDL, ao mesmo tempo que estabelece a concentração inicial do colesterol celular (NAKANDAKARE, 2011). São os medicamentos mais utilizados para o tratamento da hipercolesterolemia em humanos, porém em relação a hipertrigliceridemia apresentam pouco efeito tanto em humano como nos cães (XENOULIS e STEINER, 2015)

Estruturalmente existem 2 tipos de estatinas:

- Tipo 1: Lovastatina, Sinvastatina e Pravastatina
- Tipo 2: Fluvastatina, Artrovastatina, Cerivastatina e Rosuvastatina.

De acordo com a natureza química são classificadas como hidrofílica (Pravastatina, Fluvastatina e Rosuvastatina) ou lipofílica (Lovastatina, Cerivastatina e Sinvastatina) ou ainda, com ambas características (Artrovastatina) (TIWARI e KHOKAR, 2014).

O uso das estatinas tem sido associado com miopatias, rabdomiólise e hepatotoxicidade em humanos, e em cães existem relatos de hepatotoxicidade. O risco para hepatotoxicidade geralmente é maior quando a esteatose está presente e, essa condição geralmente está presente em animais que apresentam hiperlipidemia severa (XENOULIS e STEINER, 2015)

A dose sugerida da Sinvastatina para utilização em cães é de 1,0 mg/kg/SID, via oral, no período noturno (DE MARCO E NORONHA, 2009) e a dose utilizada da Artrovastatina é de 5 mg/Kg/dia (BRIAND et al., 2010).

2.3.4.2.4. INIBIDORES DA ABSORÇÃO DO COLESTEROL

A Ezetimiba foi considerada o primeiro e único inibidor seletivo da absorção intestinal de colesterol. Inibe a absorção de colesterol no intestino delgado, e reduz a captação pelo fígado do colesterol proveniente do intestino, reduzindo o armazenamento hepático do colesterol e diminui o *clearance* de colesterol para o sangue (SANDO e KNIGHT, 2015). É um fármaco que não afeta a absorção de triglicérides, ácidos biliares e vitaminas como a A e a D (DAVIS et al., 2001).

2.3.4.2.5. RESINAS SEQUESTRADORAS DE ÁCIDOS BILIARES (Colestipol, Colesteramina e Colesevelam)

Se ligam aos ácidos biliares no intestino e reduzem a recirculação enterohepática dos ácidos biliares (FORD e LUDLOW, 2010; SANDO e KNIGHT, 2015) e, promovem a conversão do colesterol em ácidos biliares no fígado (CATANOZI, 2015; SANDO e KNIGHT, 2015).

2.3.4.3. USO DO ÔMEGA-3 PARA A TERAPIA DA HIPERLIPIDEMIA

Os ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 são abundantes nos peixes marinhos e têm sido amplamente utilizados na medicina humana como tratamento auxiliar em diversas doenças (LOTTENBERG, 2011). São nutrientes usados no tratamento de doenças sendo considerados nutracêuticos, ou seja, é um nutriente com característica de medicamento (BOOTHE, 1997; LENOX e BAUER, 2013).

De acordo com Lottenberg (2011), foram descritos vários mecanismos cardioprotetores e vasculares do ômega-3 em seres humanos, como anti-arritmico, melhora da função autonômica, redução da agregação plaquetária e da pressão arterial, melhora da função endotelial e a vasodilatação, estabilização da placa de ateromas, redução da aterosclerose e da trigliceridemia, aumento da síntese da adiponectina, redução da deposição de colágeno e ação anti-inflamatória.

A insuficiência cardíaca é reconhecida como uma doença inflamatória associada a elevada produção de eicosanoides e outros mediadores inflamatórios, desse modo, um dos principais benefícios na utilização do ômega 3 está na produção de eicosanoides com características menos inflamatórias e ainda pode reduzir a produção de mediadores inflamatórios, como citocinas inflamatórias - fator de necrose tumoral (FNT), interleucina-1 β (IL-1) e interleucina-6 (IL-6) (FREEMAN et al., 1998; FREEMAN, 2010).

A caquexia caracterizada pela perda de massa corporal magra que ocorre na doença cardíaca, afeta tanto a musculatura esquelética como a musculatura do coração e contribui para a disfunção miocárdica. A patogênese da caquexia é multifatorial e fatores como dieta inadequada, aumento do requerimento energético, perdas excessivas e alteração no

metabolismo contribuem para essa condição (FREEMAN et al.,1998). As citocinas inflamatórias, especialmente fator de necrose tumoral e interleucina 1, são os mediadores primários da caquexia, pois inibem o apetite, aumentam o metabolismo energético e aceleram a quebra de proteína muscular (FREEMAN et al., 1998; FREEMAN, 2010). Os ácidos graxos ômega 3 atuam na redução do catabolismo proteico e bloqueiam os efeitos do FNT e da IL-1 (FREEMAN et al, 1998; FREEMAN, 2010) e conseqüentemente, minimizam a perda de massa magra nos animais com caquexia cardíaca (FREEMAN, 2010).

Ainda de acordo com FREEMAN (2010), é sugerido que o ômega 3 diminua a incidência de arritmias, principalmente, fibrilação atrial. Além disso, os efeitos anti-arrítmicos parecem ser multifatoriais e também atuam sobre os canais de sódio, potássio e cálcio.

Os ácidos graxos ômega 3 reduzem o remodelamento e disfunção cardíaca, diminuem a frequência cardíaca e a pressão arterial, melhoram a função endotelial e aumentam a função dos barorreceptores e ainda, reduzem a agregação plaquetária. Portanto, são benéficos para o tratamento da doença cardíaca, também em estágios iniciais (FREEMAN, 2010).

A doença renal é uma das causas mais frequentes de doença e morte em cães, principalmente, nos animais geriátricos. A suplementação da dieta com ácidos graxos poli-insaturados modificou o curso da doença renal induzida em ratos (BROWN et al., 1998), em um estudo experimental realizado em cães, a doença renal crônica também foi induzida e, nesse caso, a administração de ômega 3 reduziu a proteinúria, preveniu a hipertensão glomerular e diminuiu a produção de eicosanoides pró-inflamatórios (BROWN et al.,1998; BROWN et al., 2000; BROWN, 2008; BAUER, 2011).

Em seres humanos, a elevação da pressão arterial é um achado comum na doença renal e, nesses casos, altas doses de óleo de peixe, diminuíram a pressão sistólica e diastólica (FRIEDMAN, 2010).

Os ácidos graxos poli-insaturados ômega 3 (EPA e DHA) podem prevenir a carcinogênese, o crescimento de tumor sólidos e a ocorrência de caquexia e metástase em modelos experimentais. O mecanismo pelos quais o ômega 3 altera o crescimento tumoral e a metástase é desconhecido, porém o EPA pode inibir a proliferação celular e inibir a apoptose (OGILVIE et al., 2000). Contudo, em um estudo realizado verificou-se que o DHA é o mais eficiente dos dois tipos de ácidos graxos ômega 3 quando utilizados em pacientes com câncer, isto devido a um maior potencial vaso-relaxante, pela indução da apoptose e tem melhores efeitos sobre a tradução da óxido nítrico-sintase e inibição da atividade da ciclo-oxigenase (SELTING et al., 2006).

Além disso, existe um efeito do ômega 3 sobre a farmacocinética e farmacodinâmica de alguns quimioterápicos que podem ser atribuídas à síntese enzimática, alterações na fluidez ou composição da membrana celular, facilitação do dano oxidativo e na peroxidação lipídica (SELTING et al., 2006). Muitos estudos foram realizados em seres humanos e foi demonstrado que os ácidos graxos ômega 3 (principalmente DHA) aumentam a eficácia e a tolerabilidade da quimioterapia, aumentando os efeitos citotóxicos dos fármacos utilizados (MOLFINO et al., 2017; YOUNG LEE et al., 2017).

A suplementação com ômega 3 em casos de neoplasia melhoram a caquexia, favorecem o ganho de peso e a manutenção da massa magra e conseqüentemente, melhoram a qualidade de vida e, portanto, podem ser utilizados como adjuvante à terapia do câncer (YOUNG LEE et al., 2017).

Artrite, pode ser classificada como artrite degenerativa que é caracterizada pela degeneração da cartilagem articular e pela presença de artropatias inflamatórias, principalmente sinovite e também pode ser classificada como osteoartrite, esta é associada com a doença degenerativa das articulações, sendo a mais comum forma de artrite tanto nos seres humanos como nos animais. Embora a osteoartrite seja mais comum em animais idosos, em sobrepeso e de raças grandes a doença pode acontecer em todas as idades tamanhos e raças (ROUSH et al., 2010; MEHLER et al., 2016).

Anti-inflamatórios esteroidais e não esteroidais são efetivos no tratamento da osteoartrite, porém podem apresentar efeitos colaterais como úlceras gastrointestinais, nefrotoxicidade, hepatotoxicidade e podem acelerar danos a cartilagem (ROUSH et al., 2010; MEHLER et al., 2016). Muitos estudos foram realizados e tem-se sugerido que a os ácidos graxos ômega 3 EPA e DHA seja benéfico no tratamento da artrite. Ecoisanoídes produzidos a partir dos ácidos graxos ômega 3 parecem ser menos potentes em induzir a inflamação do que os produzidos a partir do ácido araquidônico (ROUSH et al., 2010).

Tanto o EPA como o DHA, presentes em altas concentrações no óleo de peixe, apresentam potentes propriedades anti-inflamatórias. Dessa forma, podem ser utilizados para reduzir a viabilidade do ácido araquidônico na produção de eicosanóides inflamatórios, logo o consumo de óleo de peixe favorece a troca do ácido araquidônico nas membranas celulares pelo EPA e pelo DHA e proporciona uma menor conversão em leucotrienos e prostaglandinas (MEHLER et al., 2016).

Um estudo realizado em cães, avaliou a utilização de ômega 3 simultâneo a utilização do carprofeno para o tratamento da osteoartrite e como resultado obteve-se uma redução na

dose de carprofeno e minimizou os efeitos adversos e ainda, demonstrou que a utilização do ômega 3 ajudou a diminuir a severidade da osteoartrite (FRITSCH et al., 2010).

Em animais, pode-se também identificar redução do prurido em cães atópicos (ARAÚJO et al., 2012), melhora da função cognitiva, neuropatias e agressividade e melhora da acuidade visual (BAUER, 2016).

Um estudo realizado com ácidos graxos ômega-3, demonstrou que os filhotes que foram suplementados com óleo de peixe apresentaram melhor acuidade visual e melhor cognição quando comparados com filhotes que tinham uma dieta com baixa quantidade de ômega-3 (BAUER, 2016).

O interesse pelos ácidos graxos ômega-3 iniciou-se em 1970, quando esquimós da Groenlândia apresentavam baixa incidência de doença coronariana, menor tempo de sangramento e menor concentração de lípidos e proteínas no plasma, sendo verificado que tais alterações não apresentavam relação com a genética, mas sim com fatores ambientais, provavelmente devido ao alto consumo de peixe (LE BLANC et al., 2005; LOTTENBERG, 2011; REIS et al., 2011; BAUER, 2016).

Os principais ácidos graxos poli-insaturados são o α -linolênico (ALA), eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA) (BAUER, 2007; FREEMAN, 2010; LOTTENBERG, 2011; LENOX e BAUER, 2013).

O ALA é encontrado em produtos como a linhaça (LENOX e BAUER, 2013) e ainda, com óleos de soja e canola (LOTTENBERG, 2011). Em mamíferos, o ALA não é eficientemente convertido em EPA e DHA, sendo sua conversão inferior a 10% em humanos (LENOX e BAUER, 2013; MAZAKI-TOVI et al., 2014) e acredita-se que também seja bastante limitado em cães e gatos (LENOX e BAUER, 2013).

Os ácidos graxos EPA e DHA são encontrados em peixes de água muito fria e profunda (LOTTENBERG, 2011). Quando se faz a suplementação com ácidos graxos Ômega-3, o óleo de peixe é a fonte mais potente e eficiente para o EPA e o DHA (LENOX e BAUER, 2013).

Em seres humanos, a capacidade do ômega-3 de reduzir os triglicérides é reconhecida, porém esse mecanismo ainda não foi bem compreendido e a dose necessária parece ser bastante elevada. Alguns estudos demonstraram que a redução da hipertrigliceridemia ocorreu pela redução da síntese de triglicérides, pela redução da incorporação de triglicérides ao VLDL, pela redução da secreção de triglicérides e pelo aumento do *clearance* dos triglicérides em partículas de VLDL. Alguns mecanismos foram propostos para explicar essa redução como a diminuição da lipogênese hepática e aumento da β -oxidação dos ácidos graxos (BACKES et al., 2016; KARALIS, 2017). Pode ocorrer também, a diminuição da absorção intestinal de lipídeos e

aumento da secreção de colesterol pela bile (HARRIS et al, 2008; REIS et al., 2011; ARAÚJO et al., 2012; DAVISON e BENES, 2016).

Em seres humanos, o Ômega-3, reduz a síntese de ApoB e de VLDL e acelera o catabolismo dos QM por estimular a atividade da enzima LPL (LOTTENBERG, 2011; CATANOZI, 2015), podendo reduzir as concentrações de TG em até 30 a 40% (LOTTENBERG, 2011). Contudo, as concentrações de LDL podem aumentar durante o tratamento, devido a maior conversão do VLDL em LDL-Colesterol, sem alterar o catabolismo da LDL (JACOBSON, 2008; LOTTENBERG, 2011; KARALIS, 2017).

O uso do ômega-3 pode ser associado ao tratamento da hiperlipidemia primária quando não houver resposta adequada somente com a utilização da dieta com teores reduzidos de gordura (BAUER 1995; JOHNSON, 2005; LE BLANC et al., 2005; XENOULIS e STEINER, 2010; XENOULIS e STEINER, 2015).

No estudo realizado por Le Blanc et al. (2005) em cães saudáveis, verificou-se que a suplementação da dieta com óleo de peixe (1.75 g/kg de EPA e 2.2 g/kg de DHA dietéticos no conteúdo de matéria seca durante 12 semanas permitiu a redução significativa das concentrações de triglicérides.

A dose de ômega-3 proposta por Freeman (2010) foi de 40 mg/kg de EPA e de 25 mg/kg de DHA. Já Xenoulis e Steiner (2015) propuseram a dose total de óleo de peixe de 200 a 300 mg/kg/dia e Reis et al. (2011) a dose de 200 mg/kg/dia, podendo a dose mínima ser 170 mg/kg/dia.

A avaliação periódica das concentrações de triglicérides é recomendada durante todo o período de tratamento com os ácidos graxos ômega-3(XENOULIS e STEINER, 2010; XENOULIS e STEINER, 2015).

2.3.5. PROGNÓSTICO

A hiperlipidemia canina tem sido considerada como uma condição benigna na maior parte dos casos, porém essa alteração possui potenciais complicações clínicas como pancreatite, doença hepatobiliar, alterações oculares, diabetes *mellitus* e convulsões, devendo ser tratada de forma apropriada sempre que necessário em Schnauzers, mesmo que assintomáticos e hígidos, é importante a prevenção e o reconhecimento precoce desse distúrbio lipídico, através de exames laboratoriais frequentes (determinações séricas de triglicérides e colesterol), a cada 6

meses ou anualmente, principalmente em animais com mais de 6 anos de idade (XENOULIS e STEINER, 2010).

3.JUSTIFICATIVA

A hiperlipidemia primária é frequente em cães da raça Schnauzer, sendo subdiagnosticada devido aos animais estarem completamente assintomáticos, na maioria das vezes. Porém, a hiperlipidemia não tratada pode causar complicações clínicas como pancreatite, resistência insulínica/ diabetes *mellitus*, alterações neurológicas (convulsões) e elevação das enzimas hepáticas.

Além da dieta com restrição de gordura, o ômega-3 pode ser usado para esta finalidade, já que em humanos existem relatos dos seus benefícios na redução de triglicérides e colesterol. Porém, raramente o ômega-3 é utilizado isoladamente, pois a dose necessária é muito elevada e a taxa de melhora da hiperlipidemia é em torno de 30 a 40%. Contudo, não existem estudos clínicos em cães hiperlipidêmicos até o momento, que avaliaram o efeito hipolipemiante do ômega-3 nem tampouco a dose está bem estabelecida, embora na prática clínica ele apresenta amplo emprego pelos médicos veterinários.

4.OBJETIVOS

O presente estudo teve como objetivos:

- Avaliar a eficácia terapêutica dos ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 em cães da raça Schnauzer com hiperlipidemia primária associados a uma dieta com restrição de gordura em um grupo e a uma dieta de manutenção com gordura moderada em outro grupo;
- Comparar os valores das concentrações séricas de triglicérides e colesterol totais antes e 90 dias após o tratamento em ambos os grupos;
- Comparar a redução (delta) da colesterolemia e trigliceridemia entre ambos os grupos;
- Comparar o perfil das lipoproteínas plasmáticas (VLDL, LDL, HDL) antes e 90 dias após o tratamento em ambos os grupos;

5.MATERIAL E MÉTODOS

5.1 ANIMAIS

Todo o protocolo experimental foi conduzido de acordo com os princípios éticos de experimentação animal e aprovados pela Comissão de ética no uso de animais da Universidade Santo Amaro, sob o parecer n.02/2016

Foram coletadas amostras sanguíneas de 122 cães saudáveis da raça Schnauzer miniatura provenientes de canis (Canil Altenstad, Canil Viña del Mar, Canil Remansos, Canil Villa der Hunde), da rotina do serviço de Endocrinologia da NAYA Especialidades, e de clínicas de colegas veterinários que colaboraram com o estudo, durante o período de julho de 2015 a fevereiro de 2017.

Dentre os 122 cães, 20 apresentaram hiperlipidemia (triglicérides > 150 mg/dL e/ou colesterol > 300 mg/dL) e foram incluídos no estudo. Os animais foram distribuídos em dois grupos, 1 e 2, de forma sequencial, isto é, os dez primeiros animais atendidos compuseram o Grupo 1 e os dez animais subsequentes o grupo 2, independente da intensidade da hiperlipidemia que apresentaram. Ao término do estudo, dois animais do Grupo 2 foram excluídos (n = 8), um por não cumprir com as exigências do estudo e outro por desenvolver tumor em glândula adrenal com suspeita de hiperadrenocorticismo. O protocolo terapêutico instituído para cada um dos grupos foi o seguinte:

- Grupo 1 – 10 cães submetidos à terapia com 1 cápsula de ômega-3 1.000mg (Ograx[®])² e dieta hipocalórica com restrição de gordura (Equilíbrio Veterinary O&D[®])³ durante 90 dias;
- Grupo 2 – 8 cães submetidos à terapia com 1 cápsula de Omega-3 1.000mg (Ograx[®]) e dieta de manutenção com quantidade de gordura moderada durante 90 dias;

A suplementação com Ômega-3 foi realizada sob a forma de cápsula gelatinosa (Ograx 3[®] 1.000 mg composto por 412 mg de EPA e 318,1 mg de DHA na proporção de 1,5:1 respectivamente) administrada aos animais uma vez ao dia no momento da refeição. Essa dose

² Ograx 3 1.000 mg Avert[®]

³ Equilíbrio Veterinary O&D Total Alimentos[®]

é equivalente a 58,8 mg/kg de EPA e 45,4 mg/kg de DHA, dose essa superior àquela proposta por Freeman (2010) que é de 40 mg/kg de EPA e 25 mg/kg de DHA.

Quadro 1 - A análise do ômega-3 utilizado para a terapia dos animais foi realizada em laboratório⁴ e encontra-se no quadro abaixo:

ANÁLISE	UNIDADE	RESULTADO
Extrato Etéreo	%	99,94
Ác. Mirístico (C14:0)	%	0,06
Ác. Pentadecanóico (C15:0)	%	0,01
Ác. Palmítico (C16:0)	%	1,84
Ác. Margárico (C17:0)	%	0,21
Ác. Esteárico (C18:0)	%	3,58
Ác. Araquídico (C20:0)	%	0,52
Ác. Behênico (C22:0)	%	0,14
Ác. Palmitoleico (C16:1)	%	0,64
Ác. Oléico (C18:1n9c)	%	10,08
Ác. cis-Eicosenóico (C20:1)	%	2,39
Ác. Erucico (C22:1n9)	%	0,39
Ác. Nervonico (C24:1)	%	0,10
Ác. Linoléico (C18:2n6c)	%	2,02
Ác. Gama Linolênico (C18:3n6)	%	0,24
Ác. Linolênico (C18:3n3)	%	0,97
Ác. cis-Eicosadienóico (C20:2)	%	0,21
Ác. cis-Eicosatrienóico (C20:3n3)	%	0,19
Ác. cis-Eicosatrienóico (C20:3n6)	%	0,25
Ác. Araquidônico (C20:4n6)	%	3,11
Ác. cis-Docosahexaenóico DHA (C22:6n3)	%	31,81
Ác. cis-Eicosapentaenóico EPA (C20:5n3)	%	41,20
Ác. Elaidico (C18:1n9t)	%	0,09
Gorduras Poli-Insaturadas	%	80,16
Gorduras Trans	%	0,09
Gorduras Monoinsaturadas	%	13,55
Gorduras Saturadas	%	6,20
Gorduras Insaturadas	%	93,70

⁴ CBO Análises Laboratoriais. Rua Waldemar José Strazzacappa, n. 272, Jardim Indianópolis, Campinas - SP

O cálculo da quantidade de alimento fornecido aos animais foi efetuado de acordo com as recomendações de necessidade energética do NRC (2006) para manutenção do peso em cães adultos. O alimento foi fornecido pelos tutores dos animais, dividido em duas refeições diárias, devendo o alimento ser pesado previamente. A fórmula utilizada para cálculo da necessidade energética foi $95x(\text{peso})^{0,75}$.

Quadro 2 - Composição química (em matéria seca) da dieta Equilíbrio Veterinary O&D®, utilizada no estudo, de acordo com o fabricante, encontra-se no quadro abaixo:

ITEM	Níveis de Garantia
Umidade (máximo) %	10
Proteína Bruta (mínimo) %	30
Extrato Etéreo (mínimo) %	7,5
Matéria Fibrosa (máximo) %	10
Matéria Fibrosa (mínimo) %	5
Matéria Mineral (máximo) %	7,2
Cálcio (máximo) %	1,2
Cálcio (mínimo) %	0,8
Fósforo (mínimo) %	0,7
Ácido Linolênico (mínimo) %	0,4
Ácido Linoléico (mínimo) %	2
L-carnitina (mínimo) %	0,04
DL-metionina (mínimo) %	0,5
Taurina (mínimo) %	0,2
Potássio (mínimo) %	0,6
Magnésio (mínimo) %	0,12
Sódio (mínimo) %	0,4
<i>Enterococcus faecium</i> (ufc/kg)	4×10^7
<i>Lactobacillus casei</i> (ufc/kg)	4×10^7
<i>Bifidobacterium bifidum</i> (ufc/kg)	2×10^7
<i>Lactobacillus acidophilus</i> (ufc/kg)	5×10^7
<i>Lactobacillus lactis</i> (ufc/kg)	3×10^7
<i>Bacillus subtilis</i> (ufc/kg)	2×10^7
Mananoligossacarídeos %	0,3
Inulina %	0,55
Energia Metabolizável (kcal/kg)	2.906

Quadro 3 - A composição básica da dieta Equilíbrio Veterinary O&D[®] utilizada no estudo, de acordo com o fabricante, encontra-se no quadro abaixo:

ITEM
Cevada (17,815%)
Sorgo integral moído (12,8%)
Farinha de vísceras de frango
Farelo de Soja
Farelo de gluten de milho – 60
Proteína isolada de soja
Gordura de Frango
Polpa de Beterraba (4%)
Levedura seca de cervejaria
Semente de Linhaça
Aditivo Probiótico
Psyllium (1,2%)
Mananoligossacarídeo (1%)
Inulina
Cloreto de Potássio
Fosfato bicálcico
Extrato de yucca schidigera
Aditivo antioxidante (tocoferol e essência de alecrim)
Celulose em pó (3,5%)
Levedura enriquecida com selênio
DL-metionina
Taurina
L-carnitina
Picolinato de Cromo
Ácido fólico
Ácido Pantotênico
Cloreto de Colinaa
Betacaroteno
Vitamina A
Vitamina B12
Vitamina B2
Vitamina B6
Vitamina D
Vitamina H
Vitamina K
Vitamina PP
Vitamina E
Vitamina C
Cobre quelatado
Ferro quelatado
Manganês quelatado
Zinco quelatado

A constatação da hiperlipidemia foi baseada em concentrações séricas de colesterol superiores a 300 mg/dl e triglicérides superiores a 150 mg/dl (XENOULIS P.G et al, 2013), após jejum alimentar de 12 horas.

Os critérios de inclusão para os animais pertencentes aos Grupos 1 e 2 foram:

- Ausência de sintomas clínicos para quaisquer doenças;
- Ausência de histórico de doenças crônicas que pudessem causar hiperlipidemia, como hipotireoidismo, Diabetes mellitus, hiperadrenocorticismo, pancreatite, colestase ou síndrome nefrótica;
- Animais com escore de condição corpórea adequado, entre 5 e 7 na escala de 9 pontos, proposto por Laflamme (1997).

Os critérios de exclusão foram:

- Utilização de fármacos que pudessem elevar as concentrações de triglicérides e colesterol, como os glicocorticóides e o fenobarbital, até três meses previamente ao estudo;
- Utilização de fármacos que pudessem reduzir as concentrações de triglicérides e colesterol, como os fibratos, estatinas, ácido ursodesoxicólico e ômega-3.
- Alimentação com dietas caseiras ou comerciais, hipocalóricas e/ou hipolipemiantes.

Todos os animais foram submetidos à anamnese, exame físico e exames laboratoriais previamente à instituição da terapia (T0) e 90 dias após o tratamento (T1).

Os exames laboratoriais que foram realizados em cada tempo estão descritos abaixo:

T0: triglicérides, colesterol, frações das lipoproteínas plasmáticas (VLDL, LDL e HDL), glicemia, ALT, FA e T4 livre por diálise;

T1: triglicérides, colesterol, frações das lipoproteínas plasmáticas (VLDL, LDL e HDL);

Adicionalmente em T0 foram determinados os valores de ALT, FA, glicose e T4 livre a fim de se descartar o hipotireoidismo, diabetes, alteração hepática, embora todos os animais estivessem absolutamente saudáveis e assintomáticos para quaisquer doenças.

5.2 METODOLOGIA

Coleta

As amostras de sangue venoso foram colhidas da veia jugular por meio de seringa de plástico com prévia assepsia, e a anamnese e o exame físico foram realizados pela própria pesquisadora. Após a coleta, a amostra sanguínea foi distribuída da seguinte forma: 3mL em tubos de ensaio para bioquímica seca (tubo vermelho) e 2 mL para a obtenção do plasma em tubo de ensaio com o anticoagulante EDTA.

As amostras sanguíneas foram mantidas em gelo e isopor e conduzidas ao laboratório⁵ em até 2 horas para serem centrifugadas e analisadas imediatamente (triglicérides, colesterol, glicose, ALT, FA, T4 Livre) ou congeladas para posterior análise (lipoproteínas - LP).

Nas amostras destinadas a dosagem das LP foi adicionado um conservante antes do congelamento, composto por 2 mM de Benzamidina (Sigma B-6506), 0,5% de Gentamicina, 0,25% de Cloranfenicol, 2mM de Aprotinina (Sigma A-6270) e 0,5 mM pMSF (Sigma P-7626).

Local de processamento das amostras

Os exames laboratoriais foram realizados no Laboratório de Análises Clínicas da NAYA Especialidades, com exceção da determinação da concentração sérica do T4 livre por diálise que foi efetuada no laboratório de hormônios do Provet⁶ e da determinação das lipoproteínas plasmáticas que foi realizada no Laboratório de Lípidos da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo⁷.

Análise Bioquímica do Colesterol Total e Triglicérides Total

A análise de concentração sérica de triglicérides, foi realizada com o emprego de kit comercial da marca Labtest[®], pelo método colorimétrico (reação de Trinder - glicerol fosfato oxidase/peroxidase) e de colesterol por meio do kit comercial da marca Labtest[®], pelo método

⁵ Laboratório de Análises Clínicas PLab/Naya Especialidades, situado na Rua Conde de Porto Alegre 1761, campo Belo, São Paulo.

⁶ Provet – Medicina Veterinária Diagnóstica, situado na Av. Aratãs, nº 1009, Moema, São Paulo

⁷ Laboratório de Lípidos, situado na Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP), LIM/10, 3º andar, sala 3305[®]

colorimétrico (Reação de Trinder - enzimática oxidase/peroxidase) e foi utilizado para essas análises o aparelho analisador bioquímico semi-automático da marca Bioplus BIO-200[®]

Perfil das Lipoproteínas e Análise

O perfil das LP plasmáticas (VLDL, IDL, LDL, HDL) foi determinado por cromatografia líquida para separação rápida de proteínas (FPLC) antes (T0) e ao término do tratamento (T1). Aliquotas de plasma (100µL) de cada animal foram injetadas em coluna Superose 6HR 10/30 (FPLC System, Pharmacia, Upsalla, Suécia). O plasma foi eluído, em fluxo constante de 0,5 mL/min, com tampão Tris (Tris 10 mM, NaCl 150 mM, EDTA 1mM e NaN3 0,03%), pH 7,4 sendo coletadas as frações de LP para determinação do conteúdo de colesterol total e triglicérides.

Quadro 4 - Metodologias e especificações dos kits utilizados para a realização dos exames laboratoriais

	KIT (reagentes)	Aparelho	Método
Triglicérides	Labtest	Bioplus 200	Colorimétrico
Colesterol	Labtest	Bioplus 200	Colorimétrico
ALT	Labtest	Bioplus 200	Cinético UV-IFCC
FA	Labtest	Bioplus 200	Cinético Bowers e Mc Comb modificado
Glicose	Labtest	Bioplus 200	GOD-Trinder
T4 livre por diálise de equilíbrio	Kit da Empresa IVD Technologies	Contador Gama Automático Perkin Elmer Wizard	Radioimunoensaio de Fase Líquida com preparo prévio da amostra por técnica de extração por diálise de equilíbrio
Lipoproteínas séricas (VLDL, LDL e HDL)		(GE Health care 17-5172-01).	Cromatografia em gel de filtração (FPLC)

Os criadores participantes do projeto, como dispunham de um grande número de animais, receberam nossa visita em seu estabelecimento, sendo a coleta de sangue realizada no próprio canil a fim de aumentar aderência desse grupo de proprietários ao projeto. Os tutores dos cães participantes desse projeto assinaram previamente um termo de consentimento, onde afirmaram estar de acordo com o delineamento do estudo, bem como se responsabilizaram pela correta administração da dieta e do ômega-3.

6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises estatísticas foram realizadas no software GraphPad Prism Versão 5.0[®]. As comparações entre os valores de TG e COL antes e após o tratamento em ambos os grupos foi realizado pelo teste T de Student pareado (média \pm DP). A comparação do delta TG e delta COL foi analisado pelo teste não paramétrico Wilcoxon-Mann-Whitney (mediana, mínimo – máximo). Foram considerados significantes todas as situações nas quais o nível descritivo de significância fosse inferior a 5%.

7.RESULTADOS

Durante todo o período do estudo, 122 Schnauzers hípidos foram investigados para a hiperlipidemia. Dentre esses, 20 (15%) apresentaram hiperlipidemia (aumento de TG e/ou COL), porém como dois animais foram excluídos, a casuística final foi de 120 cães, sendo 102 não hiperlipidêmicos e 18 hiperlipidêmicos. Dentre os 18 animais, 14 eram fêmeas (6 inteiras e 8 castradas) e 4 machos castrados. Seis animais ($n = 6/18$; 33%) apresentaram hiperlipidemia mista (ou seja, aumento de TG e COL concomitantemente), 8 animais ($n = 8/18$; 45%) apenas hipertrigliceridemia e 4 ($n = 4/18$; 22%) apresentaram apenas hipercolesterolemia (Figura 7). Os valores (média \pm desvio padrão) das concentrações sanguíneas de triglicérides e colesterol dos animais, previamente à instituição da terapia, foram: $391,44 \pm 415,62$ mg/dL, e $285,56 \pm 79,60$ mg/dL, respectivamente (Tabelas 1, 2 e 3).

A média de idade, considerando os animais dos 2 grupos foi de $7,06 \pm 2,21$ anos, sendo a idade mínima de 6 meses e a máxima de 12 anos (Tabela 1).

Figura 7: Frequência de hipertrigliceridemia isolada, hipercolesterolemia isolada e hiperlipidemia mista em 120 cães hípidos da raça Schnauzer (SP/2015-2017)

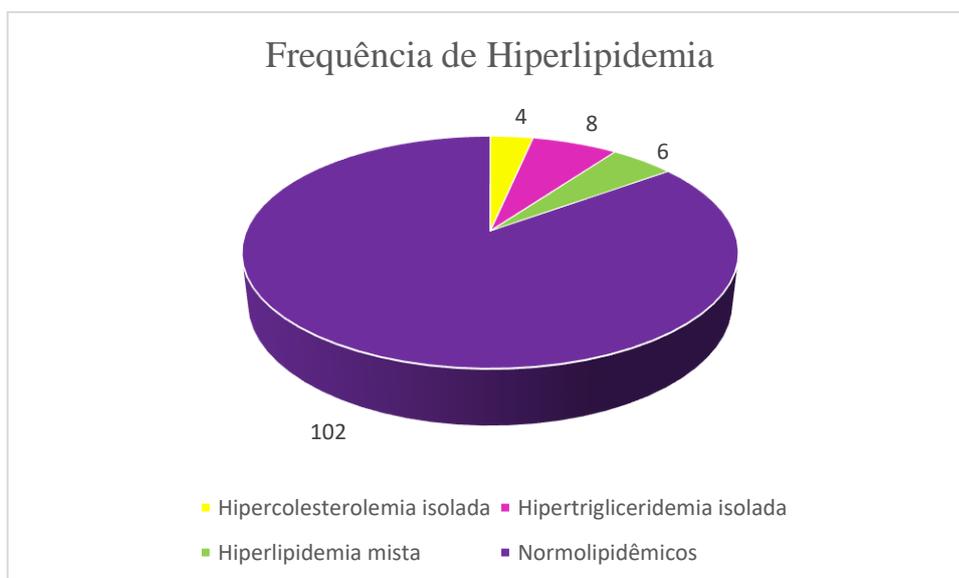


Figura 8: Frequência de hipertrigliceridemia isolada, hipercolesterolemia isolada e hiperlipidemia mista dos 18 cães híidos da raça Schnauzer (SP 2015-2017)

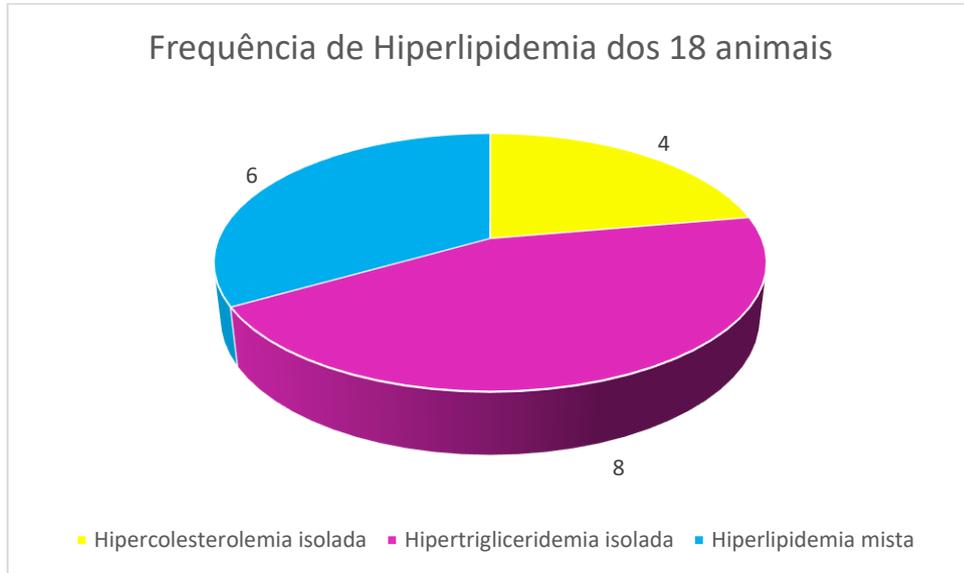


Tabela 1- Identificação dos 20 cães hígdos da raça Schnauzer, de acordo com idade, sexo, escore de condição corporal e concentrações séricas de triglicérides e colesterol (SP/2015-17) antes da instituição da terapia (T0).

Animal	Idade (Anos)	Sexo	Peso (Kg)	Escore de Condição Corporal	Castração	Triglicérides (mg/dL)	Colesterol (mg/dL)
1	4 anos	F	6,5	5	Não	75	362
2	0,6 anos	F	6,1	5	Não	32	325
3	0,5 anos	F	5,6,	5	Não	320	315
4	12 anos	M	6.9	5	Sim	115	302
5	7 anos	F	7,0	6	Sim	178	247
6	5 anos	F	7,2	6	Não	170	387
7	5 anos	F	6,6	5	Não	205	352
8	6 anos	F	8,5	7	Sim	1198	290
9	9 anos	M	9,2	7	Sim	218	168
10	9 anos	F	8,9	7	Sim	1402	334
11	8 anos	F	8,7	6	Sim	1140	322
12	8 anos	M	11,0	7	Sim	208	210
13	7 anos	F	8,3	6	Sim	183	130
14	8 anos	F	9,6	7	Sim	340	387
15	8 anos	M	10,9	7	Sim	313	220
16	8 anos	F	7,0	7	Sim	612	280
17	3 anos	F	7,5	6	Não	159	352
18	6 anos	F	8,0	6	Sim	178	157
Média	7,06	..	7,97	6,11	..	391,44	285,56
DP	2,21	..	1,55	0,83	..	415,62	79,60
VR	15-150	116-300

Com relação ao tipo de hiperlipidemia apresentada pelos animais de cada grupo, podemos afirmar que: 4 animais do Grupo 1 (n = 4/10; 40%) apresentaram hiperlipidemia mista (aumento de triglicérides e colesterol concomitantemente), 3 (n = 3/10, 30%) apresentaram hipertrigliceridemia e 3 (n = 3/10; 30%) apenas hipercolesterolemia. Já no Grupo 2, 2 animais (n = 2/8, 25%) apresentaram hiperlipidemia mista, 5 apresentaram (n= 5/8, 62,5%) hipertrigliceridemia e 1 hipercolesterolemia (n= 1/8, 12,5%) (Figura 8 e 9). Os valores de média e desvio padrão dos TG e COL do Grupo 1 foram: $391,3 \pm 487,86$ mg/dL e $308 \pm 63,06$ mg/dL e para o Grupo 2 foram, respectivamente, $391,63 \pm 336,89$ mg/dL e $257,25 \pm 92,88$ mg/dL.

Figura 9: Frequência de hiperlipidemia mista, hipertrigliceridemia isolada e hipercolesterolemia isolada em 18 cães hígdos da raça Schnauzer, pertencentes aos Grupos 1 e 2 antes da instituição das terapias (SP 2015-2017).

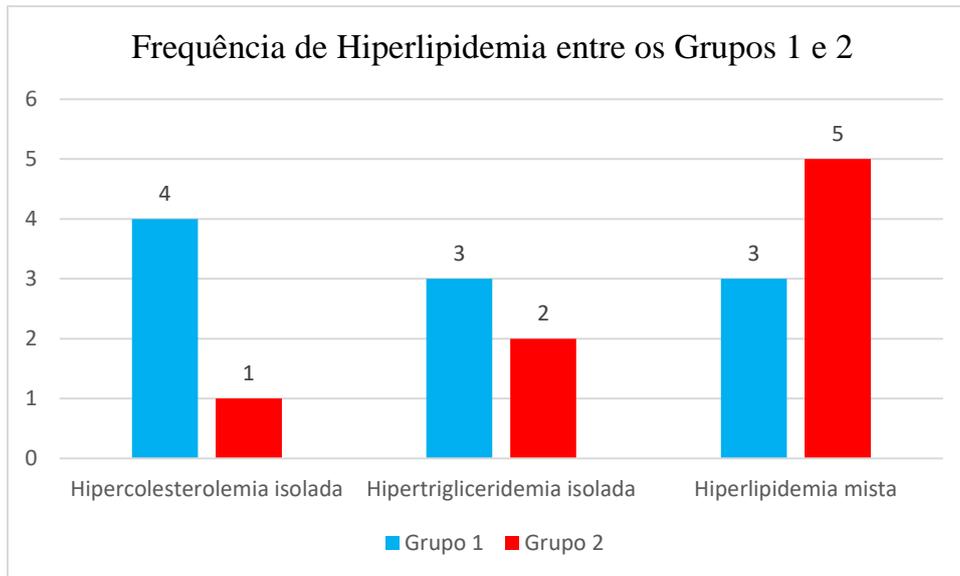


Tabela 2 - Identificação dos 10 animais pertencentes ao Grupo 1, bem como os seus respectivos valores de colesterol, triglicérides, ALT, FA, Glicose e T4 livre por diálise de equilíbrio e a quantidade de EPA e DHA recebida por Peso (Kg) e Peso Metabólico (PM)/Kg, previamente à instituição da terapia (T0) (SP 2015/2017)

Animal	Idade (Anos)	Sexo	Peso (Kg)	ECC	Triglicérides (mg/dL)	Colesterol (mg/dL)	Glicose (mg/dL)	ALT (U.I/L)	FA (U.I/L)	T4 livre (ng/dL)	EPA		DHA	
											Peso (kg)	P.M.(Kg)	Peso (kg)	P.M.(Kg)
1	4	F	6,5	5	75	362	68	31	108	1,97	63,38	101,22	48,92	78,13
2	0,6	F	6,1	5	32	325	84	43	58	3,11	67,54	106,15	52,13	81,93
3	0,5	F	5,6	5	320	315	82	59	63	2,16	73,57	113,18	56,78	87,36
4	12	M	6,9	5	115	302	79	80	38	1,38	59,71	96,78	46,08	74,70
5	7	F	7,0	6	178	247	86	57	96	2,28	58,85	95,74	45,42	73,90
6	5	F	7,2	6	170	387	82	282	49	0,65	57,22	93,74	44,16	72,35
7	5	F	6,6	5	205	352	91	68	66	0,94	62,42	100,07	48,18	77,24
8	6	F	8,5	7	1198	290	98	48	679	1,02	48,47	82,76	37,41	63,88
9	9	M	9,2	7	218	168	75	78	196	0,85	44,78	78,00	34,56	60,20
10	9	F	8,9	7	1402	334	112	50	433	1,96	46,29	79,96	35,73	61,72
Média	7,13	..	7,25	5,80	391,30	308,20	85,70	79,60	178,60	1,63	58,22	94,76	44,94	73,14
DP	2,70	..	1,22	0,92	487,86	63,06	12,36	72,74	211,97	0,79	9,36	11,49	7,22	8,87
Mediana	5,5	..	6,95	5,5	191,50	320	83	58	81	1,67	59,28	96,26	45,75	74,3
Mínima	0,5	..	5,6	5	32	168	68	31	38	0,65	44,78	78	34,56	60,2
Máxima	12	..	9,2	7	1402	387	112	282	679	3,11	73,57	113,18	56,78	87,36
V.R.	15-150	116-300	60-120	7-92	10-96	0,82-3,65

Tabela 3 - Identificação dos 8 animais pertencentes ao Grupo 2, bem como os seus respectivos valores de colesterol, triglicérides, ALT, FA, Glicose e T4 livre por diálise de equilíbrio e a quantidade de EPA e DHA recebida por Peso (Kg) e Peso Metabólico (PM)/Kg, previamente à instituição da terapia (T0) (SP 2015-2017)

Animal	Idade (Anos)	Sexo	Peso (Kg)	ECC	Triglicérides (mg/dL)	Colesterol (mg/dL)	Glicose (mg/dL)	ALT (U.I/L)	FA (U.I/L)	T4 livre (ng/dL)	EPA		DHA	
											Peso (kg)	P.M.(kg)	Peso (kg)	P.M.(Kg)
1	8	F	6,2	6	1140	322	104	34	105	2,3	66,45	104,86	51,29	80,93
2	8	M	8,7	7	208	210	94	76	55	1,75	47,35	81,34	36,55	62,78
3	7	F	11	6	183	130	100	24	49	1,34	37,45	68,21	28,90	52,64
4	8	F	8,4	7	340	387	85	89	77	1,25	49,04	83,50	37,85	64,45
5	8	M	9,6	7	313	220	95	43	152	1,85	42,91	75,55	33,12	58,31
6	8	F	8,5	7	612	280	92	38	113	1,22	48,47	82,76	37,41	63,88
7	3	F	7,0	6	159	352	103	54	69	1,98	58,85	95,74	45,42	77,24
8	6	F	7,5	6	178	157	80	13	80	0,91	54,93	90,90	42,40	63,88
Média	7,0	..	8,36	6,50	391,63	257,25	94,13	46,38	87,50	1,58	50,68	85,36	65,51	65,51
DP	1,77	..	1,51	0,53	336,89	92,88	8,44	25,64	34,15	0,47	9,16	11,56	9,31	9,31
Mediana	8	..	8,45	6,50	260,5	250	94,5	40,5	78,5	1,54	48,76	83,13	63,88	63,88
Mínima	3	..	7	6	159	130	80	34	49	0,91	37,45	68,21	52,64	52,64
Máxima	8	..	11	7	1140	387	104	89	152	2,3	66,45	104,86	80,93	80,93
V.R.	15-150	116-300	60-120	7-92	10-96	0,82-3,65

No G1, 4 animais apresentaram aumento de FA e 1 animal apresentou aumento de ALT; a glicose sanguínea e T4 livre encontravam-se dentro da normalidade e no G2 3 animais apresentaram aumento da Fosfatase Alcalina, mas não apresentaram alterações em ALT, glicose e T4 Livre que se encontravam dentro da normalidade.

Após a instituição da terapia, tanto o Grupo 1 como o Grupo 2, foram submetidos a uma nova coleta de sangue aos 90 dias para a determinação de triglicérides e colesterol para avaliação da eficácia das distintas terapias empregadas.

Os animais do grupo1 foram alimentados com dieta coadjuvante de baixa caloria e baixa gordura e na composição dessa dieta a fonte de ômega-3 foi o óleo de linhaça. Os animais do grupo 2, foram alimentados com uma dieta de manutenção, com quantidade de gordura (extrato etéreo) que variou entre 9% a 17% e algumas dessas marcas de ração utilizavam como fonte de ômega 3, o óleo de peixe (Quadro 5).

Quadro 5: Porcentagem de extrato etéreo, necessidade energética diária e fonte de ômega-3 dos animais pertencentes ao Grupo 1 e Grupo 2

Animal	Grupo	Extrato Etéreo (%)	Necessidade Energética diária (KCAL)	Fonte de ômega na dieta
1	1	7,5	386,65	Óleo de linhaça
2	1	7,5	368,69	Óleo de linhaça
3	1	7,5	345,8	Óleo de linhaça
4	1	7,5	404,4	Óleo de linhaça
5	1	7,5	408,78	Óleo de linhaça
6	1	7,5	417,52	Óleo de linhaça
7	1	7,5	391,11	Óleo de linhaça
8	1	7,5	472,91	Óleo de linhaça
9	1	7,5	501,79	Óleo de linhaça
10	1	7,5	489,44	Óleo de linhaça
11	2	15	373,26	Óleo de Peixe
12	2	14	481,17	Óleo de Peixe
13	2	10	573,80	Óleo de Canola
14	2	16	468,73	Óleo de Peixe
15	2	13	518,03	Óleo de linhaça
16	2	17	472,91	Óleo de peixe
17	2	12	408,78	Óleo de peixe
18	2	12	430,51	Óleo de linhaça

Tabela 4: - Identificação dos 10 animais pertencentes ao Grupo 1, bem como os seus respectivos valores de colesterol, triglicérides, antes da instituição da terapia com ômega-3 e dieta hipocalórica (T0) e 90 dias após a instituição da terapia (T1) (SP 2015-2017)

Animal	Idade (Anos)	Sexo	Triglicérides (mg/dL)		Colesterol (mg/dL)	
			T0	T1	T0	T1
1	4	F	75	49	362	135
2	0,6	F	32	32	325	105
3	0,5	F	320	31	315	99
4	12	M	115	124	302	128
5	7	F	178	69	247	104
6	5	F	170	67	387	142
7	5	F	205	52	352	123
8	6	F	1198	457	290	213
9	9	M	218	58	168	156
10	9	F	1402	248	334	185
Média	7,13	..	391,30*	118,7*	308,20**	139**
Erro Padrão	0,85	..	154,3	42,76	19,94	11,67
Desvio Padrão	2,70	..	487,86	135,21	63,06	36,91
Mediana	5,5	..	191,5	62,5	320	131,5
Mínimo	0,5	..	32	31	168	99
Máximo	12	..	1402	457	387	213
Valor de Referência	15-150	15-150	116-300	116-300

*TG T0 x T1, p = 0,0491

** COL T0 x T1, p = 0,0001

Tabela 5 - Identificação dos 8 animais pertencentes ao Grupo 2, bem como os seus respectivos valores de colesterol e triglicérides, antes da instituição da terapia com ômega-3 (T0) e 90 dias após a instituição da terapia (T1) (SP 2015-2017)

Nome	Idade (Anos)	Sexo	Triglicérides (mg/dL)		Colesterol (mg/dL)	
			T0	T1	T0	T1
1	8	F	1140	708	322	258
2	8	M	208	121	210	245
3	7	F	183	140	130	151
4	8	F	340	245	387	279
5	8	M	313	274	220	177
6	8	F	612	364	280	229
7	3	F	159	51	352	231
8	6	F	178	103	157	88
Média	7,0	..	391,63 *	250,75*	257,25**	207,25**
Erro Padrão	0,62	..	96,12	152,4	26,98	23,38
Desvio Padrão	1,77	..	336,89	211,56	92,88	63,79
Mediana	8	..	260,5	192,50	250	230
Mínimo	3	..	159	51	130	88
Máximo	8	..	1140	708	387	279
Valor de Referência	15-150	15-150	116-300	116-300

*TG T0 x T1, p = 0,0210

** COL T0 x T1, p = 0,0373

Os resultados demonstraram que os tratamentos realizados reduziram a colesterolemia e a trigliceridemia dos animais em ambos os grupos (Figura 10 e 11).

O percentual de redução (delta) foi calculado para a colesterolemia e trigliceridemia pela diferença entre T0 (basal) e T1 (pós tratamento), sendo identificada significância estatística pelo teste Wilcoxon-Mann-Whitney apenas na concentração plasmática de colesterol. A dieta hipocalórica e ômega reduziu a colesterolemia mais eficientemente quando comparada aos tratados apenas com ômega. Já a redução dos triglicerídeos ocorreu de forma similar em ambos os grupos.

A análise por FPLC mostrou que o perfil de distribuição de colesterol e triglicérides nas lipoproteínas plasmáticas não foi diferente entre os períodos pré (T0) e pós tratamento (T1) tanto no grupo 1 (Ômega e dieta) quanto no Grupo 2 (Ômega), já que houve diminuição tanto de Tg quanto de colesterol total (Figura 12 e 13 e Tabelas 7 e 8).

Figura 10: Concentração sérica de colesterol e triglicérides observados no Grupo 1 (ômega-3 e Dieta Hipocalórica) no momento T0 e T1 (90 dias após o tratamento) (SP 2015-2017)

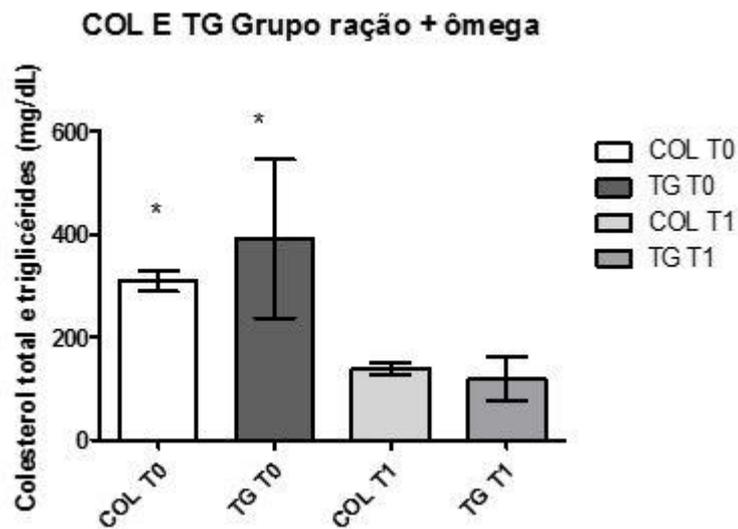


Figura 11: Concentrações séricas de colesterol e triglicérides observados no Grupo 2 (ômega-3) no momento T0 e T1 (90 dias após o tratamento) (SP 2015-2017)

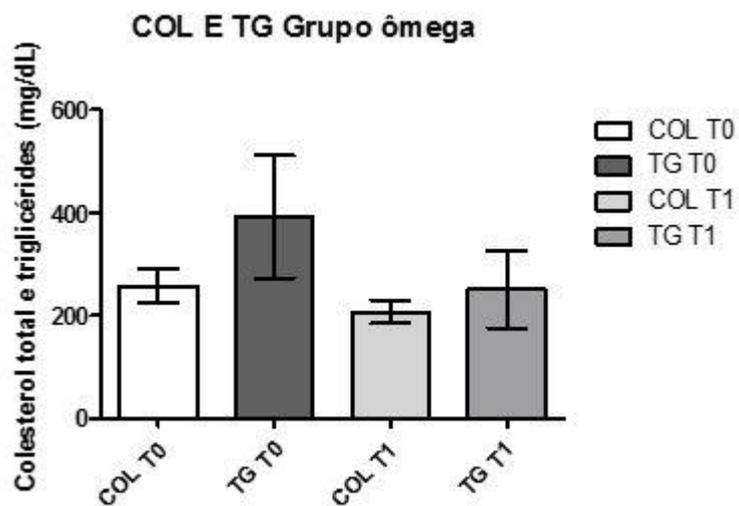


Tabela 6: Efeito do tratamento com ômega-3 e dieta (Grupo 1) e tratamento com ômega-3 (Grupo 2) sobre a porcentagem de redução (Δ) do colesterol e (Δ) do triglicérides (média, desvio padrão (DP), mediana, mínimo e máximo)

	% de redução colesterol		% de redução triglicérides	
	Ômega e Dieta	Ômega	Ômega e Dieta	Ômega
Média	52,30	16,38	53,10	36,75
DP	20,35	22,04	33,59	16,60
Mediana	60,50	20	61,50	39,50
Mínimo	7,00	17	8	12
Máximo	69	44	90	68

Figura 12: Perfil de distribuição da porcentagem do colesterol total e do triglicérides nas frações de lipoproteínas determinadas por cromatografia FPLC dos cães do Grupo 1. Comparação do perfil de distribuição de Col e TG antes e após tratamento (A e B) e Comparação do perfil de distribuição apenas do COL antes e após tratamento (C) e apenas dos TG antes e após tratamento (D). (Laboratório de lípides LIM/10, FM-USP, 2015-2017)

GRUPO ÔMEGA E DIETA – G1

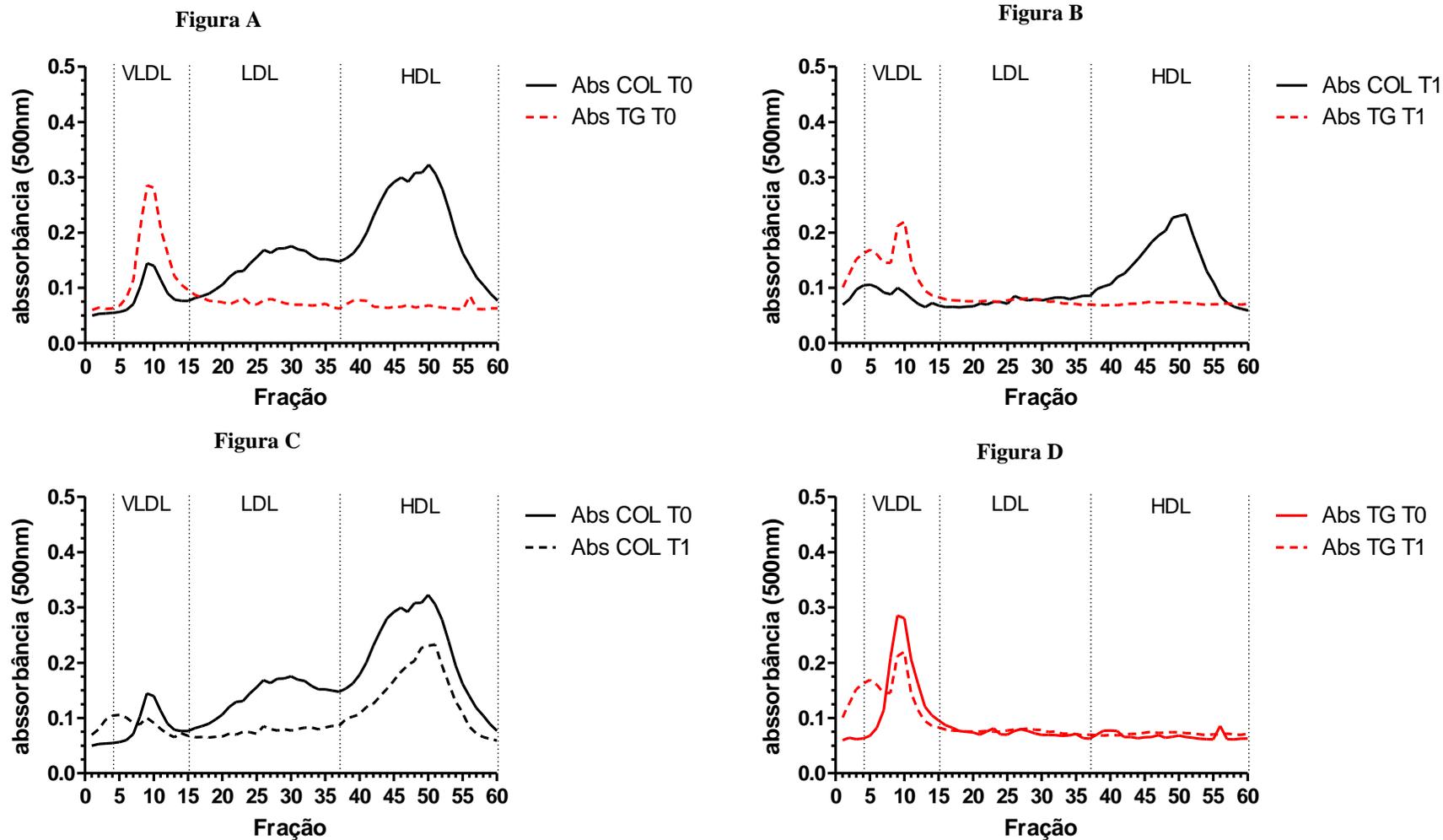


Figura 13: Perfil de distribuição da porcentagem do colesterol total e do triglicérides nas frações de lipoproteínas determinadas por cromatografia FPLC dos cães do Grupo 2. Comparação do perfil de distribuição de Col e TG antes e após tratamento (A e B) e Comparação do perfil de distribuição apenas do COL antes e após tratamento (C) e apenas dos TG antes e após tratamento (D). (Laboratório de lípides LIM/10, FM-USP, 2015-2017)

GRUPO ÔMEGA – G2

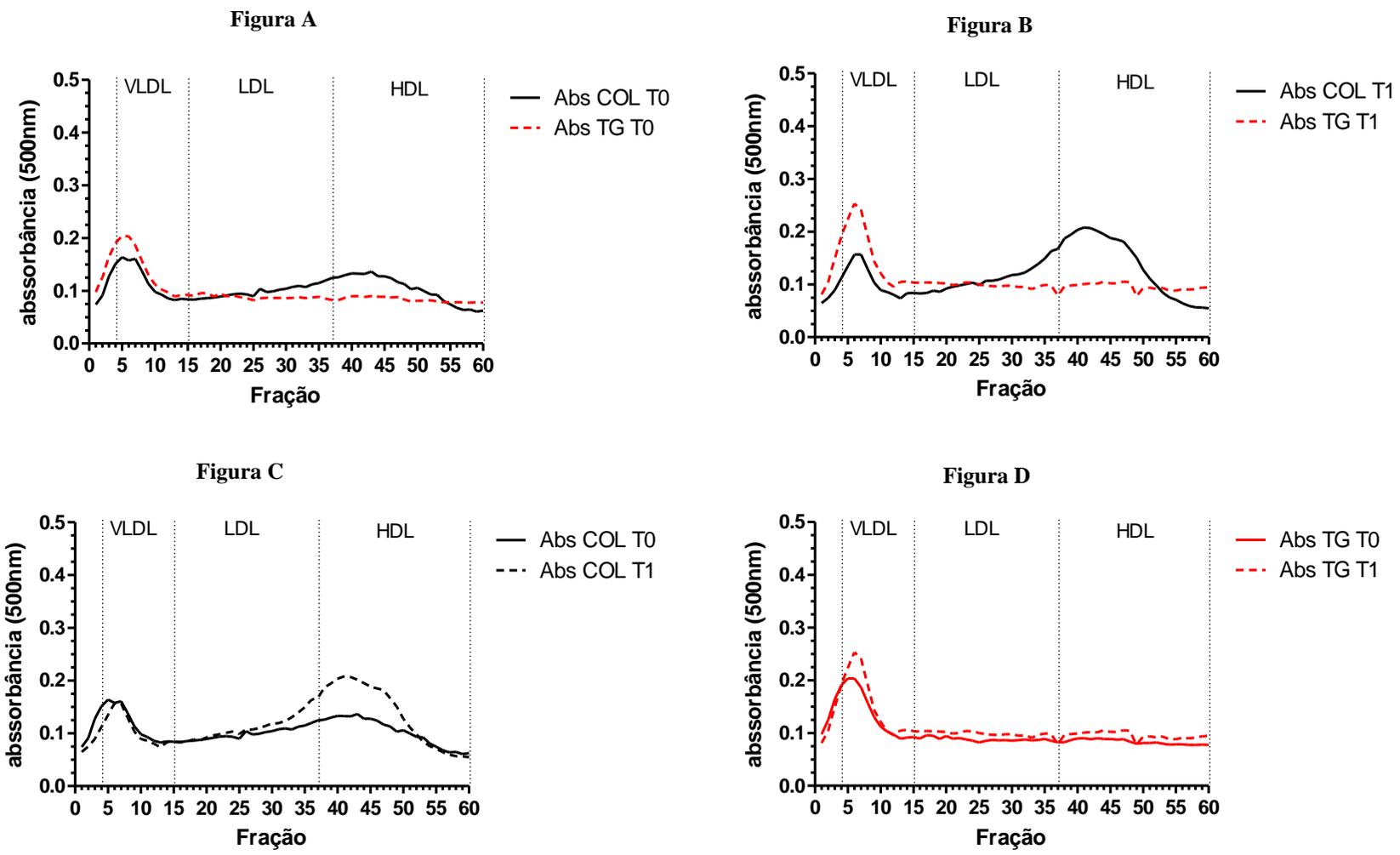


Tabela 7 - Concentrações Plasmáticas de Colesterol Total, Triglicérides Total e distribuição percentual de colesterol e triglicérides nas frações de lipoproteínas determinadas por FPLC no Grupo 1 (Ômega-3 e Dieta), antes (T0) e 90 dias após o tratamento (T1) (SP 2015-2017)

	T0	T1
Colesterol Total (mg/dL)	308,2 ± 63,06	139,0 ± 36,91
VLDL Colesterol (%)	11,2 ± 5,18	16,17 ± 9,46
LDL Colesterol (%)	33,6 ± 7,12	29,3 ± 9,91
HDL Colesterol (%)	55,2 ± 8,11	54 ± 15,64
Triglicérides (mg/dL)	391,3 ± 487,9	118,7 ± 135,2
VLDL Triglicérides (%)	30,8 ± 11,76	30,4 ± 12,42
LDL Triglicérides (%)	34 ± 8,39	35,1 ± 5,93
HDL Triglicérides (%)	35,2 ± 7,72	34,3 ± 6,65

Tabela 8 - Concentrações Plasmáticas de Colesterol Total, Triglicérides Total e distribuição percentual de colesterol e triglicérides nas frações de lipoproteínas determinadas por FPLC no Grupo 2 (Ômega-3), antes (T0) e 90 dias após o tratamento (T1) (SP 2015-2017)

	T0	T1
Colesterol Total (mg/dL)	257,25 ± 92,88	207,25 ± 63,79
VLDL Colesterol (%)	23,88 ± 5,54	18,75 ± 4,74
LDL Colesterol (%)	34,88 ± 7,93	33,50 ± 7,3
HDL Colesterol (%)	41,38 ± 10,18	47,63 ± 9,75
Triglicérides (mg/dL)	391,63 ± 336,89	250,75 ± 211,56
VLDL Triglicérides (%)	28,38 ± 8,86	29,88 ± 11,44
LDL Triglicérides (%)	34,75 ± 6,86	34,25 ± 6,11
HDL Triglicérides (%)	36,75 ± 3,69	35,88 ± 6,08

8.DISCUSSÃO

No presente estudo, a hiperlipidemia primária foi identificada em 15% (n = 18/120) dos cães Schnauzers hígidos investigados e as terapias empregadas, de forma geral, se mostraram eficazes na redução dos triglicérides e do colesterol, principalmente quando o ômega-3 foi associado a uma dieta com restrição de gordura.

Dos 120 animais avaliados para o estudo, 15% (18/120) apresentaram hiperlipidemia nas diferentes formas, seja por aumento de colesterol, aumento de triglicérides ou de ambos. Xenoulis et al. (2011) relataram que a hiperlipidemia é um achado comum nos Estados Unidos, onde 32,8% dos 192 Schnauzers avaliados no estudo apresentaram hiperlipidemia após jejum alimentar de 12 horas.

Corroborando os achados de Xenoulis et al. (2007) e Mori et al. (2010), a hipertrigliceridemia isolada (44,45% dos casos) e a hiperlipidemia mista (33,33% dos casos) foram as formas de hiperlipidemia mais prevalentes observadas nesse estudo. No entanto, também foi observada a hipercolesterolemia isolada em 22,22% dos casos, resultado este não relatado por outros autores em cães da raça Schnauzer. Whitney et al (1993) e Xenoulis et al (2013) afirmaram que a hipercolesterolemia, quando presente em Schnauzers, sempre apresentou associação com a hipertrigliceridemia. A hipercolesterolemia associada à hipertrigliceridemia tem sido reportada em Pastor de Shetland (SATO et al, 2000; MORI et al. 2010) e Beagles (WADA et al, 1977). Já a hipercolesterolemia isolada foi relatada em Briards e em uma família de Collie de pelo longo do Reino Unido (WATSON et al., 1993, JEUSETTE et al., 2004), mas não em Schnauzers até o momento. Sendo assim, a etiologia desse aumento de colesterol nesses 4 animais precisa ser melhor investigada.

A causa da hiperlipidemia idiopática do Schnauzer ainda é desconhecida, mas sugere-se que seja hereditária por ser prevalente em uma raça específica. Possíveis mecanismos incluem o aumento da produção ou redução de *clearance* de VLDL e quilomícrons ou ambos (XENOULIS et al., 2007; MORI et al., 2010). De forma similar, existe uma hipertrigliceridemia familiar em seres humanos, caracterizada por aumento na produção de VLDL (WHITNEY et al., 1993; STEFANUTTI e JULIUS, 2015)

Em humanos, as causas podem estar associadas à deficiência de Apo CII e da lipoproteína lipase (LPL). A LPL é uma enzima chave no transporte de lípidos, que catalisa a hidrólise dos quilomícrons e VLDL em ácidos graxos não esterificados para a utilização tecidual. Mutações no gene LPL em humanos foram identificadas e pode ocorrer por deficiência

completa ou parcial da enzima, que resultará no acúmulo de lipoproteínas no sangue; condição esta denominada de deficiência familiar de LPL. No entanto, este gene foi estudado em Schnauzers com hiperlipidemia primária, mas mutações no seu RNAm e em regiões de splicing não foram encontradas (SCHICKEL, 2005).

A Apo CII age como um ativador da enzima LPL e sua deficiência também leva à hipertrigliceridemia. Já foi descrita em humanos, porém não há estudos em cães (XENOULIS; STEINER, 2015). Dessa forma, mais pesquisas genéticas são necessárias para elucidar a etiologia da hiperlipidemia primária.

A hiperlipidemia tende a ser mais prevalente em animais com idade superior a 6 anos (XENOULIS et al., 2007; XENOULIS et al., 2011), em concordância aos achados desse estudo, onde a média de idade dos cães foi de $7,06 \pm 2,21$ anos. Entretanto, a hiperlipidemia também foi observada em animais jovens, onde 2 animais tinham idade entre 6 e 7 meses, 1 animal com 3 anos, 1 com 4 anos, 2 com 5 anos, 2 com 6 anos, e os 10 animais restantes com idade igual ou superior a 7 anos.

Mori et al. (2010), também relataram em seu estudo a maior prevalência de hiperlipidemia em animais com idade mais avançada, e conclui-se que o risco da hiperlipidemia aumenta com a idade e é mais prevalente em animais idosos.

Deve-se atentar ao fato de que os 2 animais com idade inferior a 1 ano, apresentavam hiperlipidemia discreta e se alimentavam de dieta comercial para filhote, a qual apresenta um maior percentual de gordura (aproximadamente 18% de gordura na composição), o que pode ter contribuído para essa hiperlipidemia. Mas de qualquer forma, a frequência de cães jovens com hiperlipidemia foi elevada em nossa casuística e sugere-se provável alteração genética de base.

Dos 18 animais com hiperlipidemia, 14 eram fêmeas e 4 eram machos, o que permitiu perceber que nesse estudo a maior prevalência ocorreu nas fêmeas, assim como relatado por Xenoulis et al. (2007) e Mori et al. (2010), porém não se pode ainda caracterizar a hiperlipidemia idiopática como uma alteração ligada ao sexo. É importante ressaltar também que 45% dos animais foram provenientes de canis, onde existe uma maior frequência de fêmeas do que machos.

Neste estudo, dos 18 animais hiperlipidêmicos 13/18 (72,22%) apresentavam escore de condição corporal em estado de sobrepeso (6/9 ou 7/9), contudo, apesar de muito especulado que a obesidade cause hiperlipidemia até o momento não existe nada confirmatório. De acordo com BRUNETTO et al. (2011) e ZANELI (2015) os estudos que foram realizados até momento padronizaram a raça, a dieta e induziram a obesidade para a avaliação da hiperlipidemia o que

não proporciona um resultado fiel. É importante ressaltar, que o tanto o grupo 1 (ômega-3 e dieta coadjuvante de baixa caloria e gordura) e o grupo 2 (ômega-3) não apresentaram mudança no escore de condição corporal após 90 dias de tratamento.

A hiperlipidemia foi mais prevalente nos animais castrados (70%) nesse estudo. SCHMIDT et al. (2004) sugeriram que as concentrações de triglicérides nas fêmeas histerectomizadas tendem a se elevar, porém Xenoulis et al. (2007) não consideraram a castração como um fator predisponente à hiperlipidemia idiopática.

Além disso, 8/18 (44,45%) dos animais eram fêmeas, castradas e estavam em sobrepeso, com escore de condição corporal que variou entre 6/9 e 7/9. Brunetto et al. (2011) afirmaram que a castração é um fator de risco a obesidade pois reduz a taxa metabólica basal, aumenta o apetite, e ainda, pode ocasionar substituição da massa muscular por tecido adiposo em consequência da menor concentração dos hormônios androgênicos. Atualmente, as fêmeas tendem a ser castradas precocemente e a castração pode levar à obesidade e favorecer o desenvolvimento da hiperlipidemia (XENOULIS, 2015).

Com exceção de 15% dos animais que apresentaram hipertrigliceridemia grave, os outros 85 % dos animais apresentaram hipertrigliceridemia que variou entre discreta a moderada ou ainda apresentaram hipercolesterolemia discreta.

Xenoulis et al. (2008) relataram em seu estudo que a hipertrigliceridemia moderada a grave pode causar aumento das enzimas séricas hepáticas, notadamente da Fosfatase Alcalina e esses dados estão de acordo com o apresentado por 10% dos animais do Grupo 1 que apresentava hipertrigliceridemia grave.

O Grupo 2 tratado somente com ômega-3 apresentou mais casos de hipertrigliceridemia do que o Grupo 1 tratado com ômega-3 e Dieta, porém a distribuição desses animais nos grupos foi aleatória e sequencial.

A intervenção na dieta é a prática mais eficaz no tratamento da hiperlipidemia (JOHNSON, 2005). Jeusette et al. (2005) afirmaram que, em seres humanos, uma dieta de baixa gordura e sem restrição de energia induz a redução das concentrações dos lípides no sangue, principalmente nas concentrações de colesterol total, no LDL-C e no HDL-C e, por outro lado, uma dieta com alta proteína e baixos níveis de carboidratos, sem restrição de energia, diminuem as concentrações de triglicérides, VLDL-TG, colesterol total e LDL-C. Um estudo realizado em Schnauzers miniaturas hiperlipidêmicos apresentado em congresso, porém não publicado, por Xenoulis et al. (2013) mostrou que o emprego da dieta hipolipemiante Gastrointestinal Low Fat Royal Canin® foi capaz de reduzir as concentrações de colesterol total e triglicérides total

na maioria dos animais de forma significativa, embora alguns não tenham alcançado os valores da normalidade para ambos os lípidos.

O Grupo 1, que foi tratado com dieta e Ômega-3, apresentou melhora significativa da hiperlipidemia, principalmente da colesterolemia, provavelmente porque houve ação sinérgica entre a dieta com restrição de gordura (aproximadamente 7,5% de gordura), e o Ômega-3.

Uma dieta de baixa gordura, alta fibra e de restrição calórica diminui o influxo de quilomícrons e conseqüentemente de triglicérides na circulação e reduz a expressão da LPL. Além disso, a dieta com baixa gordura também ajuda a reduzir as concentrações de colesterol e da gordura saturada encaminhada ao fígado (WATSON e BARRIE, 1993).

Embora os efeitos hipolipemiantes benéficos do ômega-3 sejam bem estabelecidos em seres humanos, o exato mecanismo de ação ainda não é bem compreendido, mas acredita-se que ocorra redução da síntese de triglicérides, redução da incorporação de triglicérides em VLDL, redução da secreção de triglicérides e aumento do *clearance* de triglicérides das partículas de VLDL e ainda, aumenta a expressão da LPL que favorecerá a remoção dos triglicérides do VLDL e dos QM (BACKES et al., 2016).

Em seres humanos, o tratamento com ômega-3 deve ser realizado com altas doses (aproximadamente 4 g/dia), contudo a dose necessária para promover melhora da hiperlipidemia em cães não é conhecida. No estudo realizado por Freeman (2010) para um efeito cardioprotetor foram propostas 2 doses, 25 mg/kg de EPA e 18 mg/kg de DHA e 40 mg/kg de EPA e 25 mg/kg de DHA porém não ficou elucidado se essas dosagens seriam ideais para todos os animais com doença cardíaca, em qualquer estágio, ou se poderiam ser utilizadas tanto para cães como para gatos. Entretanto, a dose utilizada no presente estudo foi um pouco superior a esta, isto é, 1 cápsula de 1.000 mg por animal com peso médio de 7 kg (ao invés de 500 mg para cada 7 kg de peso recomendada pelo fabricante), o que conferem 58,8 mg/kg de EPA e 45,4 mg/kg de DHA. De qualquer forma, como a dose para o tratamento complementar da hiperlipidemia em cães ainda não está estabelecida, pode ser que a dose utilizada esteja adequada ou que doses maiores sejam necessárias.

Xenoulis e Steiner (2015) sugerem que o efeito hipolipemiante do ômega-3 seja dose-dependente e, portanto, para obter o efeito hipolipemiante pode ser necessário uma dose muito mais alta do que a recomendada até o momento.

Le Blanc et al. (2005) em seu estudo verificou a redução da concentração de triglicérides com o uso do ômega-3 em cães não hiperlipidêmicos, e a partir deste achado, sugeriu o seu uso em cães com hipertrigliceridemia.

LENOX e BAUER (2013) relataram a diminuição da atividade plaquetária e distúrbios de coagulação por inibir a produção de tromboxano A₂ a partir do ácido araquidônico que podem ocorrer tanto em seres humanos como em cães e gatos, alterações gastrointestinais como êmese e diarreia secundária a doses elevadas de ômega-3, alterações em cicatrização de lesões e lesões cirúrgicas, ganho de peso devido às calorias presentes na cápsula de ômega-3 são potenciais efeitos adversos da utilização desses ácidos graxos. Contudo, em nossa casuística, não foram relatados efeitos colaterais, exceto pelo forte odor de peixe mencionado pelos tutores dos animais e que está de acordo com o apresentado por FREEMAN (2010), que relata o forte odor de peixe exalado pelos animais.

A hiperlipidemia apresentada pelos animais do Grupo 1 e do Grupo 2 sofreu redução e, em alguns casos, normalização com os tratamentos instituídos.

Os animais pertencentes ao Grupo 2 foram tratados apenas com Ômega-3, sendo sua dieta original mantida, ou seja, esse grupo ingeriu mais gordura do que o grupo 1 (ômega-3 e dieta coadjuvante de baixa gordura e baixa caloria). E mesmo com uma dieta de manutenção, a qual possui uma quantidade moderada de gordura, foi possível observar melhora das concentrações sanguíneas de triglicérides e colesterol, apontando o efeito benéfico do ômega-3 nesses animais. Vale ressaltar que seis dos oito animais do Grupo 2 apresentavam hiperlipidemia discreta (TG = 150 a 400 mg/dL), um animal hiperlipidemia moderada (TG = 612 mg/dL) e outro hiperlipidemia grave (TG = 1.140 mg/dL). Esses dois últimos não apresentaram normalização dos valores de TG, porém suas concentrações reduziram pela metade. Portanto, em situações onde as concentrações de TG estão mais elevadas, é de suma importância a associação do tratamento dietético.

A fim de se comparar melhor o efeito hipolipemiante do tratamento utilizado no Grupo 1 com o tratamento do Grupo 2, realizou-se a análise estatística da diferença dos valores de TG (Delta TG) e COL (Delta COL) antes e após os respectivos tratamentos e constatou-se que a associação da dieta hipocalórica e ômega-3 mostrou-se mais eficaz na redução da colesterolemia. Esses achados corroboram os relatos da literatura que apontam o manejo nutricional como um ponto chave para o tratamento das hiperlipidemias (WATSON e BARRIE, 1993; JEUSETTE et al, 2005; XENOULIS et al., 2013). Sempre que possível a terapia deve ser combinada e deve levar em consideração a gravidade da hiperlipidemia, de tal forma que, as hiperlipidemias discretas a moderadas podem ser tratadas inicialmente com dieta restrita em gordura associada ao ômega-3 e, em casos de hiperlipidemia moderada a grave, pode-se associar o bezafibrato (DE MARCO et al, 2017).

No presente estudo, assim como no estudo realizado por JERICÓ et al. (2009), o isolamento das lipoproteínas foi realizado por FPLC (*Fast Protein Liquid Chromatography*) que é um método mais sensível e oferece resultados superiores em comparação à eletroforese e ultracentrifugação de lipoproteínas.

Em 1974, Mahley e Weisgraber isolaram 4 classes de lipoproteínas em cães saudáveis, VLDL, LDL, HDL, e uma quarta classe de lipoproteínas, denominada de HDL1; essa classe de lipoproteína continha muito mais colesterol do que a LDL. Contudo, é importante ressaltar que a presença da HDL1, exclusiva dos cães, ocorre apenas na hipercolesterolemia grave e está presente nos animais que não expressam a enzima CETP, como é o caso da espécie canina (JERICÓ et al., 2009).

O perfil lipídico de animais saudáveis é caracterizado por baixas concentrações de VLDL-C e LDL-C e alta concentração de HDL-C (JERICÓ et al., 2009; MORI et al., 2010).

No presente estudo, não houve diferença estatística na distribuição de triglicérides e colesterol total nas diferentes frações de lipoproteínas e o lipidograma permaneceu inalterado, uma vez que tanto o colesterol como os triglicérides totais apresentaram diminuição após o tratamento. Tais achados foram similares àqueles encontrados no grupo controle dos estudos de Jericó et al. (2009) e Mori et al. (2010).

Por outro lado, cães obesos tendem a apresentar elevadas concentrações de VLDL-TG, HDL-TG e baixas concentrações de HDL-COL e cães com Hiperadrenocorticismos apresentam elevadas concentrações de VLDL-COL e VLDL-TG e baixas concentrações de HDL-COL (JERICÓ et al., 2009). Já animais hipotireoideos apresentam altos níveis de LDL, sendo a maior parte do colesterol carregada nesta lipoproteína (Vitale e Olby, 2007).

Mori et al. (2010), em seu estudo realizado em Schnauzer e em Pastores de Shetland com hiperlipidemia primária, não encontraram diferença significativa entre as lipoproteínas ligadas ao colesterol e esse dado se assemelha ao obtido em nosso estudo, em que os perfis das lipoproteínas eram compatíveis com o de animais saudáveis e, de fato, o que seria esperado era que animais com hiperlipidemia primária do Schnauzer apresentassem níveis elevados de VLDL-TG, ou a combinação de VLDL-QM, com ou sem hipercolesterolemia, mas esse dado não foi encontrado.

Só seria esperado uma modificação no lipidograma se houvesse um aumento expressivo nos níveis de triglicérides e colesterol, o que não foi observado em nosso estudo.

9.CONCLUSÃO

Diante dos dados obtidos, foi possível concluir que a hiperlipidemia primária do Schnauzer também pode ocorrer na forma de hipercolesterolemia e ainda, que tanto o tratamento realizado no Grupo 1 (Ômega-3 e dieta hipocalórica) como o tratamento realizado no Grupo 2 (Ômega-3) foram eficazes na redução das concentrações de triglicérides e colesterol após os 90 dias de tratamento. Contudo, a terapia combinada de dieta com restrição de gordura associada ao ômega-3 mostrou melhores resultados na redução da colesterolemia, podendo ser considerado um tratamento adequado em cães Schnauzers com hiperlipidemia primária de discreta a moderada intensidade.

10.LIMITAÇÕES

Descreve-se abaixo as principais limitações identificadas durante a condução do estudo:

Baixa casuística de cães hiperlipidêmicos, embora tenhamos coletado sangue de 122 animais no total. Tivemos dificuldade de captar cães Schnauzers com hiperlipidemia primária, identificados ao acaso, uma vez que estão saudáveis e assintomáticos, e por este motivo, não procuram o serviço veterinário. Isso nos levou a investigar cães provenientes de canis de Schnauzers na cidade de São Paulo.

Os grupos 1 e 2 foram um pouco heterogêneos com relação a idade e ao tipo de hiperlipidemia apresentada, se mista ou se caracterizada por elevação isolada de TG ou COL;

A ausência de um terceiro Grupo (G3) para se testar apenas a dieta hipocalórica com restrição de gordura, sem o ômega-3, o qual não foi composto devido à dificuldade em se obter esses animais.

Alguns animais, infelizmente, não foram pesados ao término do tratamento, pois muitos deles receberam a nossa visita em suas residências ou em canis, onde não dispunham de balança precisa e confiável. Apesar disso, alterações significativas não parecem ter acontecido, pela avaliação do escore de condição corpórea (o qual não sofreu modificação) e pela inspeção direta e exame físico.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, M.M.G.; SANTOS, T.H.Y.; LOURENÇO, M.L.G.; TAKAHIRA, R.K.; MACHADO, L.H.A; CARVALHO, L.R.; Avaliação de colesterol e triglicérides em cães saudáveis suplementados com ômega n-3; **Arq. Bras. Med. Vet. e Zootec**; v.64; n.6; p.1491-1496; SP.
- BACKES, J.; ANZACONE, D.; HILLERMAN, D.; CATINI,J.; The clinical relevance of Omega-3 fatty acids in the management of hypertriglyceridemia; **Lipids in Health and Disease**; v.15; n.118; p. 1-12; 2016.
- BARRIE, J.; NASH, A.S.; WATSON, T.D.G.; Quantitative analysis of canine plasma lipoproteins; **Journal of Small Animal Practice**; v.34; p.226-231;1993.
- BAUER, J.E.; Evaluation and dietary considerations in idiopathic hyperlipidemia in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**; n.206; v.11; p.1684– 1688; 1995.
- BAUER, J.E.; Comparative Lipid and Lipoprotein Metabolism; **Veterinary Clinical Pathology**; v.25; n.2; p.49-56; 1996.
- BAUER,J.E; Lipoprotein-mediated transport of dietary and synthesized lipids and lipid abnormalities of dogs and cats; **Journal of the American Veterinary Medical Association**; v.224; n.5; 2004a.
- BAUER, J.E.; HIPERLIPIDEMIAS.In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C.; **Tratado de Medicina Interna Veterinária: Doenças do cão e do gato**; 5ª ed.; v.1; p.296-305; Guanabara Koogan; SP; 2004b.
- BAUER, J.E.; Responses of dogs to dietary omega-3 fatty acids; **Journal of the American Veterinary Medical Association**; v.231; n.11; p.1657-1661; 2007.
- BAUER, J.E.; Therapeutic use of fish oils in companion animals; **Journal of the American Veterinary Medical Association**; v.239; n.11; p.1441-1451;2011.
- BAUER, J.E.; The essential nature of dietary Omega-3 fatty acids in dogs; **Journal of the American Veterinary Medical Association**; v.249; n.11; p. 1267-1272; 2016.
- BEHLING-KELLY, E; Serum lipoprotein changes in dogs with renal disease; **Journal of Veterinary Internal Medicine**; v.28; p.1692-1698; 2014.
- BEHLING-KELLY, E.; COLLINS-CRONKRIGHT, R.; Increases in beta-lipoproteins in hyperlipidemic and dislipidemic dogs are associated with increase erythrocyte osmotic fragility; **Veterinary Clinical Pathology**; n.43; v.3; p.405-415; 2014.
- BEHREND, E.N; KOOISTRA, H.S.; NELSON.C.E; REUSCH,C.E.; SCOTT-MONCRIEFF, J.C.R; Diagnosis of Spontaneous Canine Hyperadrenocorticism:2012; **ACVIM Consensus Statement (Small Animal)**; 2012.

BEHREND, E.N; Canine Hyperadrenocorticism in: FELDMAN, E.C; NELSON, R.W.; REUSCH, C.E; SCOTT-MONCRIEFF, J.C.R; **Canine & Feline Endocrinology**;p.377-451; Saunders Elsevier; 2015.

BOOTHE, D.M.; Nutraceuticals in veterinary medicine. Part I. Definitions and regulations. **Compendium and Continuing Education for the Practice Veterinarian**; v.19; p.1248–1255; 1997.

BOLAND, L.L.; FOLSOM, A.R.; ROSAMOND; W.D.; Hyperinsulinemia, Dyslipidemia, and Obesity as risk factors for hospitalized Gallbladder disease: A prospective study; **Annals of Epidemiology**; v.12; n.2; p.131-140; 2002.

BRIAND, F; SERESIER, S.; KREMPF, M.; SILIART,B.; MAGOT, T.; OUGUERRAM, K.; NGUYEN, P.; Atovastatin increases intestinal cholesterol absorption in dogs; **The Journal of Nutrition**; v.136; p. 2034S-2036S; 2006

BROWN, S.A.; BROWN, C.A; CROWELL, W.A.; BARSANTI, J.A.; ALLEN, T.; COWELL, C.; FINCO, D.R.; Beneficial effects of chronic administration of dietary ω -3 polyunsaturated fatty acids in dogs with renal insufficiency; **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**; v.131; n.5; p.447-455; 1998.

BROWN, S.A.; BROWN, C.A; CROWELL, W.A.; BARSANTI, J.A.; KANG, C.W; ALLEN, T.; COWELL, C.; FINCO, D.R.; Effects of dietary polyunsaturated fatty acid supplementation in early renal insufficiency in dogs; **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**; .135; n.3; p.275-286; 2000.

BROWN, S.A.; Oxidative stress and chronic kidney disease; **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**; v.38; p.157-166; 2008

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

CATANOZI, S.; DISLIPIDEMIAS. In: JERICÓ, M.M.; ANDRADE NETO, J.P.; KOGIKA, M.M.; **Tratado de Medicina Interna de Cães e Gatos**; c.196; v.2; 1ª ed; p.1780-1793; GEN ROCA; RJ, 2015.

CRISPIN, S.M.; Lipids and the eye; **The Veterinary Journal**; Accepted Manuscript; 2016.

CROOK, M.A.; Lipoprotein X: clinical implications; **Annals of Clinical Biochemistry**; v.50; p.93-94; 2013.

CRUZ, F.B.; TAVARES-MANOEL, F.M.; Hipotireoidismo Canino In: JERICÓ, M.M.; ANDRADE NETO, J.P.; KOGIKA, M.M.; **Tratado de Medicina Interna de Cães e Gatos**; c.196; v.2; 1ª ed; p. 1666-1676; GEN ROCA; RJ, 2015.

DAVIDSON, M.H.; BENES, L.B.; The future of n-3 polyunsaturated fatty acid therapy; **Current Opinion in Lipidology**; v.27; n.6; p.57-578;2016

DAVIS JR, H.R; PULA, K.K; ALTON, K.B.; BURRIER, R.E.; WATKINS, R.W.; The synergistic hypocholesterolemic activity of the potent cholesterol absorption inhibitor, Ezetimibe, in combination with 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors in dogs; **Metabolism**; v.50; n.10; p.1234-1241; 2001.

DAVISON, L.J.; Diabetes *Mellitus* em Cães in: MOONEY, C.T.; PETERSON, M.; **Manual de Endocrinologia Veterinária**; 4^a ed; Roca,2015

DE MARCO, V.; NORONHA, K.S.M.; Avaliação terapêutica da Sinvastatina e do Bezafibrato nas Dislipidemias caninas primárias e secundárias; **Jornada de Iniciação Científica**; Universidade de Guarulhos, 2009.

DE MARCO, V.; NORONHA, K.S.M.; CASADO, T.C.; NAKANDAKARE, E.R.; FLORIO, J.C.; Therapy of Canine Hyperlipidemia with Bezafibrate. In: American College of Veterinary Internal Medicine Forum, 2013, Seattle. **Proceedings of the American College of Veterinary Internal Medicine Forum 2013**, 2013. p. 694-695. Abstract

DE MARCO, V.; MELLO, G, F.R.; CAPELLANES, M.; NAKANDAKARE, E.R.; FLORIO, J.C.; Investigation Of Basal And Postprandial Hypertriglyceridemia And Insulin Resistance In Healthy Miniature Schnauzers. In: American College of Veterinary Internal Medicine Forum, 2013, Seattle. **Proceedings of the American College of Veterinary Internal Medicine Forum 2013**, 2013. p. 694. Abstract

DE MARCO, V.; Abordagem Nutricional Dos Pacientes Com Hiperlipidemia In: JERICÓ, M.M.; ANDRADE NETO, J.P.; KOGIKA, M.M.; **Tratado de Medicina Interna de Cães e Gatos**; c.196; v.2; 1^a ed; p. 275-276; GEN ROCA; RJ, 2015a.

DE MARCO, V.; Hiperadrenocorticismo Canino In: JERICÓ, M.M.; ANDRADE NETO, J.P.; KOGIKA, M.M.; **Tratado de Medicina Interna de Cães e Gatos**; c.196; v.2; 1^a ed; p. 1691-1703; GEN ROCA; RJ, 2015b.

DE MARCO, V.; NORONHA, K.S.M.; CASADO, T.C.; NAKANDAKARE, E.R.; FLORIO, J.C.; SANTOS, E.Z.; GILOR, C.; Therapy of canine hyperlipidemia with Bezafibrate; **Journal of Veterinary Internal Medicine**; p.1-6; 2017

DIXON, D.M.; REID, S.W.; MOONEY, C.T.; Epidemiological, clinical, haematological and biochemical characteristics of canine hypothyroidism; **Veterinary Record**; v.145; n.17; p.481-487; 1999.

DODKIN, S.; PAPASOULIOTIS, K.; Avaliação da Hiperlipidemia in: MOONEY, C.T.; PETERSON, M.; **Manual de Endocrinologia Veterinária**; 4^a ed; Roca,2015

FREEMAN, L.M.; RUSH, J.E.; KEHAYIAS, J.J.; ROSS, J.N; MEYDANI, S.N.; BROWN, D.J.; DOLNIKOWSKI, G.G.; MARMOR, B.N.; WHITE, M.E.; DINARELLO, C.A.; ROUBENOFF, R.; Nutritional alterations and the effect of fish oil supplementation in dogs with heart failure; **Journal of Veterinary Internal Medicine**; v.12; p.440-448; 1998.

FREEMAN, L.M.; Beneficial effects of omega-3 fatty acids in cardiovascular disease; **Journal of Small Animal Practice**; v.51; p.462-470; 2010.

FORD, R.B.; Idiopathic hyperchilomicronaemia in miniature schnauzers; **Journal of Small Animal Practice**; v.34; p.488-492;1993.

FORD, R.B.; Clinical management of lipemic patientes; **The Compendium**; v.18;n. 10; p.1053-1064;1996.

FORD, R.B.; LUDLOW C.L; Disorders of Lipid Metabolism.in: HAND, M.S.; THATCHER, C.D.; REMILLARD, R.L.; ROUDEBUSH, P.;NOVOTNY, B.J.; **Small Animal clinical Nutrition**;5^a ed.; p.545-555; Marl Morris Institute; 2010

FRIEDMAN, A.N.; Omega-3 fatty acid supplementation in advanced kidney disease; **Seminars in Dialysis**; v.23; n.4; p.396-400; 2010.

FRITSCH, D.; ALLEN, T.A.; DODD, C.E.; JEWELL, D.E.; SIXBY, P.S.’; LEVENTHAL, P.S.; HAHN, K.A.; Dose-titration effects of fish oil in osteoarthritic dogs; **Journal of Veterinary Internal Medicine**; v.24; p.1020-1026; 2010.

FURROW, E; JAEGER, J.Q.; PARKER, V.J.; HINCHCLIFF, K.W.; JOHNSON, S.E.; MURDOCH, S.J.; DE BOER, I.H.; SHERDING, R.G.; BRUNZELL, J.D.; Proteinuria and lipoprotein lipase activity in miniature schnauzer dogs with and without hypertriglyceridemia; **The Veterinary Journal**; v.212; p.83-89; 2016

GINSBERG, H.N.; Lipoprotein Physiology; **Endocrinology and Metabolism Clinics of North America**; v.27; n.3; p.503-519; 1998.

HARRIS, W.S.; MILLER, M.; TIGHE, A.P.; DAVIDSON, M.H.; SCHAEFER, E.J.; Omega-3 fatty acids and coronary heart disease risk: clinical and mechanistic perspectives. **Atherosclerosis**; v.197; n.1; p.12–24; 2008.

HERRTAGE, M.E; RAMSEY, I. K.; Hiperadrenocorticismo em Cães in: MOONEY, C.T.; PETERSON, M.; **Manual de Endocrinologia Veterinária**; 4^a Ed; Roca, 2015

JACOBSON, T.A.; Role of n-3 fatty acidis in the treatment of hypertriglyceridemia and cardiovascular disease; **American Journal of Clincal Nutrition**; v.87; p. 1981S-1990S; 2008.

JANKOWSKI, K.; WYZGAL, A.; WIERZBICKA, A.; TRONINA, O.; DURLIK, M.; PRUSZCZYK, P.; Rapid normalization of severe hypercholesterolemia mediated by lipoprotein X ahter transplantation in a paciente with cholestasis – a case report; **Acta Biochimica Polonica**; v. 62, n. 3; 2015.

JERICÓ, M.M.; MASCHIETTO, L.A.; Emprego do Bezafibrato no tratamento da hipertrigliceridemia primária em Schnauzer. Relato de 2 casos; **Brazil Journal of Veterinary Research Animal Science**; v.40; p.193; 2003.

JERICÓ, M.M; CHIQUITO, F.C. ; KAJIHARA, K.; MOREIRA,M.A.B; GONZALES, R.; MACHADO,F.L.A.; NUNES, V.S.; CATANOZI, S.; NAKANDAKARE, E.R; Chromatographic analysis of lipid fractions in healthy dogs and dogs with obesity or hyperadrenocorticism; **Veterinary Diagnostic Investigation**;v. 21; p. 203-207,2009.

JEUSETTE, I.; GRAUWELS, M.; CUVELIER, C.; TONGLLET, C.; ITASSE, L.P.; DIEZ, M.O.; Hypercholesterolemia in a family of rough collie dogs; **Journal of Small Animal Practice**; v.45; p.319-324; 2004.

JEUSETTE, I.C.; LHOEST, E.T.; ITASSE, L.P.; DIEZ, M.O.; Influence of obesity on plasma lipid and lipoprotein concentrations in dogs; **American Journal of Veterinary Research**; v.66; n.1; p.81-86; 2005.

JOHNSON, M.C.; Hyperlipidemia disorders in dogs; **Compendium and Continuing Education for the Practice Veterinarian**; v.27; p.361-364; 2005.

KARALIS, D.G.; A review of clinical practice guidelines for the management of hypertriglyceridemia: a focus on high dose Omega-3 fatty acids; **Advances in Therapy**; v.34; n.2; p.300-323; 2017

KLUGER, E.K.; MALIK, R.; ILKIN, W.J.; SNOW, D.; SULLIVAN, D.R.; GOVENDIR, M.; Serum triglyceride concentration in dogs with epilepsy treated with phenobarbital or with phenobarbital and Bromide; **Journal of the American Veterinary Medical Association**; v.233; n.8; 2008.

KUTSUNAI, M.; KANEMOTO, H.; FUKUSHIMA, K.; FUJINO, Y.; OHNO, K.; TSUJIMOTO, H.; The association between gall bladder mucoceles and hyperlipidemia in dogs: A retrospective case control study; **The Veterinary Journal**; v.199; p 76-79; 2014.

LE BLANC, C.; BAUER, J.E.; HOSGOOD, G.; MAULDIN, G.E.; Effect of dietary Fish Oil and Vitamin E Supplementation on Hematologic and Serum Biochemical Analytes and Oxidative Status in Young Dogs; **Veterinary Therapeutics**; v.6; n.4; p.325-340; 2005.

LENOX, C.E.; BAUER, J.E.; Potential Adverse Effects of Omega-3 fatty Acids in Dogs and Cats; **Journal of Veterinary Internal Medicine**; v.27; p.217-226; 2013.

LOTTENBERG, A. M.P; Ácidos Graxos Ômega-3; In: QUINTÃO, E.C.R.; NAKANDAKARE, E.R.; PASSARELLI, M.; **Lípidos do metabolismo à aterosclerose**; p. 327 -331; Sarvier; SP; 2011.

MAHLEY, R.W.; WEISBERG, K.H; Canine Lipoproteins and Atherosclerosis I: Isolation and Characterization of Plasma Lipoproteins from Control Dogs; **Circulation Research**; v.35; 1974

MAHLEY, R.W.; WEISBERG, K.H.; BERSOT, T.P.; Disorders of Lipid Metabolism. In: KRONENBERG, H.M.; MELMED, S.; POLONSKY, K. S.; LARSEN, P.R.; **Willians Textbook of Endocrinology**; p.1589-1653; e.11; Saunders Elsevier; Canadá; 2008

MAZAKI-TOVI, M.; ABOOD, S.K.; SCHENCK, P.A.; Fish oil supplementation increases concentration of adiponectin in healthy dogs; **Journal of Small Animal Practice**; v.55; p.247-253; 2014.

MEHLER, S.J.; MAY, L.R.; KING, C.; HARRIS, W.S.; SHAH, Z.; A prospective, randomized, double blind, placebo-controlled evaluation of the effects of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on the clinical signs and erythrocyte membrane polyunsaturated fatty

acid concentrations in dogs with osteoarthritis; **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**; v.109; p.1-7; 2016.

MOLFINO, A.; AMABILE, M.I.; MAZZUCCO, S.; BIOLO, G.; FARCOMENI, A.; RAMACCINI, C.; ANTONAROLI, S.; MONTI, M., MUSCARITOLI, M.; Effect of oral docosahexaenoic acid (DHA) supplementation on DHA levels and omega-3 index in red blood cell membranes of breast cancer patients; **Frontiers in Physiology**; v.8

MOONEY, C.T.; SHIEL, R.E.; Hipotireoidismo Canino in: MOONEY, C.T.; PETERSON, M.; **Manual de Endocrinologia Veterinária**; 4ª Ed; Roca, 2015

MORI, N.; LEE, P.; MURANAKA, S.; SAGARA, F.; TAKEMITSU, H.; NISHIYAMA, Y.; YAMAMOTO, I.; YAGISHITA, M.; ARAI, T.; Predisposition for primary hyperlipidemia in Miniature Schnauzers and Shetland sheepdogs as compared to other canine breeds; **Research in Veterinary Science**; v.88; p. 394-399; 2010.

MORI, N.; LEE, P.; KIDO, T.; SAITO, T.; ARAI, T.; Potential use of cholesterol lipoprotein profile to confirm obesity status in dogs; **Veterinary Research Communications**; v.35; p.223-235; 2011.

NAKANDAKARE, E.R.; Tratamento farmacológico das dislipidemias. In: QUINTÃO, E.C.R.; NAKANDAKARE, E.R.; PASSARELLI, M.; **Lípides do metabolismo à aterosclerose**; p. 375-463; Sarvier; SP; 2011.

NELSON, R.W.; Hiperlipidemia in: NELSON, R.W.; COUTO, C.G.; **Medicina Interna de Pequenos Animais**; Guanabara Koogan; 2ª ed; 1998

NELSON R.W.; COUTO, C.G.; **Medicina Interna de Pequenos Animais**. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p. 860-865, 2010.

NELSON, R.W.; Canine Diabetes *Mellitus* in: FELDMAN, E.C; NELSON, R.W.; REUSCH, C.E; SCOTT-MONCRIEFF, J.C.R; **Canine & Feline Endocrinology**; p.213-257; Saunders Elsevier; 2015.

OGEDEGBE, H.O.; BROWN, D.W.; Lipids, Lipoproteins, and Apolipoproteins and their Disease Associations; **Laboratory Medicine**; n.7; v.32; p.384-389; 2001.

OGILVIE, G.K.; FETTMAN, M.J.; MALLINCKRODT, C. H.; WALTON, J.A.; HANSEN, R.A.; DAVENPORT, D.J.; GROSS, K.L; RICHARDSON K.L.; ROGERS, Q.; HAND, M.S.; Effect of fish oil, arginine, and doxorubicin chemotherapy on remission and survival time for dogs with lymphoma; **Cancer**; v.88; n.8; 2000

PASSARELLI, M.; Lipoproteínas. In: QUINTÃO, E.C.R.; NAKANDAKARE, E.R.; PASSARELLI, M.; **Lípides do metabolismo à aterosclerose**; p. 1-88; Sarvier; SP; 2011.

PÖPPL, A.G.; ELIZEIRE, M.B.; Diabetes *Mellitus* em Cães In: JERICÓ, M.M.; ANDRADE NETO, J.P.; KOGIKA, M.M.; **Tratado de Medicina Interna de Cães e Gatos**; c.196; v.2; 1ª ed; p.1747-1761; GEN ROCA; RJ, 2015.

REAVEN, G.; The metabolic syndrome or the insulin resistance syndrome? Different names, different concepts, and different goals; **Endocrinology Metabolism Clinics of North America**; v.33; p.283-303; 2004.

REIS; J.S.; SAAD, F.M.O.B.; OGOSHI, R.C.S.; FRANÇA, J; Manejo dietético na hiperlipidemia em cães; **Cães e Gatos Vet Food**; e.21; 2011.

SANDO, K.R.; KNIGHT, M.; Nonstatin therapies for management of dyslipidemia: a review. **Clinical Therapeutics**; n.37; v.10; p.2153-2179; 2015

SATO, K; AGOH, H.; KANESHIGE, T.; HIKASA, Y.; KAGOTA, K.; Hypercholesterolemia in Shetland Sheepdogs; *Journal of Veterinary Medical Sciences*; v.62; p.1297-1301; 2000.

SCARTEZINI, M; PICHETH, G.; SALGADO, W.; IHARA, S.S.M.; PINTO, L.E.S.A.; TORRES, K.P.; MARTINEZ, T. L.R.; Metabolismo dos lípidos e lipoproteínas. In: MARTINEZ, T.L.R.; **Manual de condutas clínicas em Dislipidemias**; p. 21-33; Medline; RJ; 2003.

ROUSH, J.K.; DODD, C.E.; FRITSH, D.A.; ALLEN, T.A.; JEWELL, D.E.; SCHOENHERR, W.D.; RICHARDSON, D.C.; LEVENTHAL, P.S.; HAHN, K.A.; Multicenter veterinary practice assessment of the effects of omega-3 fatty acids on osteoarthritis in dogs; **Journal of the American Veterinary Medical Association**; v.236; n.1; 2010.

SCHENCK, P.A.; Lipoprotein lipase and hepatic lipase activity in dogs with primary hyperlipoproteinemia; **Journal of Veterinary Internal Medicine**; v.17, p. 386, 2002 (abstract).

SCHICKEL, R.; Identification of the nucleotide sequence of the lipoprotein lipase gene as well as its role in the development of hyperlipidemia and pancreatitis in the miniature Schnauzer; Dissertation; München; 2005.

SCHMIDT, C.; LOPES, M.D.; SILVA, M.C.; FIGHERA, R.A.; SOUZA, T.M.; Perfil lipoproteico de cadelas submetidas à ovariectomia com e sem reposição estrogênica; **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**; v. 56; n.4; p. 449-456; 2004

SCOTT-MONCRIEFF, J.C.R; Hypothyroidism in: FELDMAN, E.C; NELSON, R.W.; REUSCH, C.E; SCOTT-MONCRIEFF, J.C.R; **Canine & Feline Endocrinology**;p.77-135; Saunders Elsevier; 2015.

SELTING, K.A.; OGILVIE, G.K.; GUSTAFSON, D.L.; LONG, M.E.; LANA, S.E.; WALTON, J.A.; HANSEN, R.A.; TURNER, S.; LAIBLE, I.; FETTMAN, M.J.; Evaluation of the effects of dietary n-3 fatty acid supplementation on the pharmacokinetics of doxorubicin in dogs with lymphoma; **American Journal of Veterinary Research**; v.67; n.1; 2006

SERESIER, S.; BRIAND, F.; OUGUERRAM, K.; SILIART, B.; MAGOT, T.; NGUYEN, P.; Fenofibrate lowers lipid parameters in obese dogs; **The Journal of Nutrition**; v.136; p.2035S-2040S; 2006.

SEIGNEUX, S.; YVES MARTIN, P.; Management of patients with nephrotic syndrome; **Swiss Med Wkly**; v. 139; n. 29-30; p.416-422.

SIPS, F.L.P; TIEMANN, C.A.; OOSTERVEER, M.H.; GROEN, A.K; HILBERS, P.A.J.; VAN RIEL, N.A.W.; A computational model for the analysis of lipoprotein distributions in the mouse: translating FPLC profiles to lipoprotein metabolism; **PLoS Computational Biology**; v.10; n.5; p.1-17; 2014.

STEFANUTTI, C.; JULIUS, U.; Treatment of primary hypetriglyceridemia states – General approach and the role of extracorporeal methods; **Atherosclerosis Supplement**s; v.18; p.85-94; 2015.

STEPIEN, K.M.; DIVYTEJA, H.; AHMED, F.; PRINSLOO, P; GUPTH, P.; Lipoprotein X in a patient with cholestasis and hypertriglyceridemia; **Annals of clinical Biochemistry**; v.50; p.173-175; 2013.

TENEBAUM, A.; FISMAN, E.Z.; Balanced pan-PPAR activator bezafibrate in combination with statin: comprehensive lipids control, and diabetes prevention? **Cardiovascular Diabetology**; v.11; n.140; 2012.

TIWARI, V.; KHOKHAR, M.; Mechanism of action of anti-hypercholesterolemia drugs and their resistance; **European Journal of Pharmacology**; v.741; p.156-170; 2014.

VITALE, C.L.; OLBY, N.J; Neurologic dysfunction in Hypothyroid, Hyperlipidemic Labrador Retrievers; **Journal of Veterinary Internal Medicine**; v.21; p. 1316; 1322; 2007.

VIVEROS, M.M.; PIÑERO, B.V.; ARES, F.G.; ARMAS, M.G.G.; MONTAÑO, J.M.; AGUILERA, C.N.; La X de las dislipidemias; **Nutrición Hospitalaria**; v.29; n.4; p.953-955; 2014.

WADA, M; MINAMISONO, T; EHRHART, L.A.; NAITO,H.K.; MISE, J.; familial hyperlipoproteinemia in beagles; **Life Sciences**; v.20; p.999-1008; 1977.

WATSON, P; SIMPSON, K.W.; BEDFORD, P.G.C.; Hypercholesterolemia in Briards in the United Kingdom; **Research in Veterinary Sciences**; v.54; p.80-85; 1993

WATSON, T.D.G.; BARRIE, J.; Lipoprotein metabolism and hyperlipidaemia in the dog and cat: A review; **Journal of Small Animal Practice**; v.34; p.479-487; 1993.

WATSON, T.D.G.; Lipoprotein Metabolism in Dogs and Cats; **Comparative Haematology International**; v.6; p.17-23; 1996.

WHITNEY, M.S.; Evaluation of hyperlipidemias in dogs and cats; **Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small animal)**, v7; n.4; p.292-300; 1992

WHITNEY, M.S.; BOON, G.D.; REBAR, A.H.; STORY, J.A.; BOTTOMS, G.D.; Ultracentrifugal and electrophoretic characteristics of the plasma lipoproteins of miniature Schnauzer dogs with idiopathic hyperlipoproteinemia; **Journal of Veterinary Internal Medicine**; v.7; p.253-260; 1993.

XENOULIS, P.G.; SUCHODOLSKI, J.S.; LEVINSKI, M.D.; STEINER, J.M; Investigation of hypertriglyceridemia in Healthy Miniature Schnauzers; **Journal of Veterinary Internal Medicine**; v.21; p.1224-1230; 2007.

XENOULIS, P.G.; Investigations into idiopathic hypertriglyceridemia in the miniature Schnauzers in North America; Dissertation; München, 2008.

XENOULIS, P.G.; SUCHODOLSKI, J.S.; LEVINSKI, M.D.; STEINER, J.M.; Serum liver enzyme activities in healthy Miniature Schnauzers with and without hypertriglyceridemia; **Journal of the American Veterinary Medical Association**; v.232; n.1; p. 63-67; 2008.

XENOULIS, P.G.; STEINER, J.M.; Lipid metabolism and hyperlipidemia in dogs; **The Veterinary Journal**; v.183; p.12-21; 2010.

XENOULIS, P.G.; LEVINSKI, M.D.; SUCHODOLSKI, J.S; STEINER, J.M; Association of hypertriglyceridemia with insulin resistance in healthy Miniature Schnauzers; **Journal of the American Veterinary Medical Association**; v.238; n.8; p. 1011-1016; 2011.

XENOULIS, P.G.; CAMMARATA, P.J.; WALZEM, R.L; MACFARLANE, R.D; SUCHODOLSKI, J.S.; STEINER, J.M; Novel lipoprotein density profiling in healthy dogs of various breeds, healthy miniature schnauzers, and miniature schnauzers with hyperlipidemia; **BMC Veterinary Research**; v.9; n.47; 2013.

XENOULIS, P.G.; STEINER, J.M.; Canine hyperlipidemia; **Journal of Small Animal Practice**; n.56; p.595-605; 2015.

YOUNG LEE, J.; SIM, T.B.; LEE, J.; NA, H.K.; Chemopreventive and chemotherapeutic effects of fish oil derived omega-3 polyunsaturated fatty acids on colon carcinogenesis; **Clinical Nutrition Research**; v. 6; n.3.; p.147-160.

ZANELI, E.B.; Análise de correspondência entre composição corporal, obesidade e hiperlipidemia em cães; Dissertação de mestrado; USP; 2015.

ANEXO

CARTA DE INFORMAÇÃO

Tratamento da hiperlipidemia primária com ácidos graxos poli-insaturados Omega-3 e dieta hipocalórica em cães da raça Schnauzer

O tutor do animal será informado sobre os objetivos e a metodologia do projeto e poderá participar voluntariamente desde que esteja disposto a, de nos receber, e permitir a coleta de sangue de seus animais. Além disso, será solicitado ao tutor que preencha um questionário cuja função é fornecer informações úteis sobre o estilo de vida do animal, hábitos alimentares, doenças prévias e uso crônico de medicamentos.

Critérios para inclusão:

- Cães hígdos exclusivamente da raça Schnauzer;
- Ausência de sinais clínicos de qualquer doença nos últimos três meses no momento da coleta de sangue;
- Ausência de doenças crônicas ou terapia com fármacos que possam interferir no metabolismo dos lipídeos, como endocrinopatias (Hiperadrenocorticismo, Diabetes mellitus, Hipotireoidismo), uso de glicocorticoides sistêmicos ou tópicos e alimentação hipocalórica.

Procedimentos de rotina

- 1- Realização de perguntas ao tutor sobre o histórico do animal
- 2- Realização de exame físico completo
- 3- Coleta de sangue para a realização de exames laboratoriais, tais como colesterol, triglicérides, glicemia, t4 livre por diálise, fosfatase alcalina e ALT, com o intuito de pesquisar eventuais alterações em cães hígdos da raça Schnauzer. A coleta será realizada através de punção venosa da veia jugular com utilização de agulha e seringa, após jejum alimentar de 12 horas.
- 4- Haverá benefício direto para o animal incluso no estudo, pois terá isenção dos testes laboratoriais propostos neste projeto (colesterol, triglicérides, FA, ALT, glicose e t4 livre por dialise) e caso seja detectada alguma alteração laboratorial, o proprietário será devidamente orientado a conduzir o tratamento.

Regras para continuidade do estudo:

- 1- O tutor deverá estar ciente e permitir a realização de todos os exames laboratoriais, no próprio estabelecimento; preparar o animal adequadamente para a coleta de sangue (amostra de jejum alimentar de 12 horas)

- 2- O tutor será contactado pelo telefone pela aluna Paula ou pela professora Viviani, responsáveis por este projeto de mestrado
- 3- Caso o proprietário do estabelecimento (canil) não possa nos receber na data determinada, deverá entrar em contato telefônico com Paula 979995649/ 981937305 ou Profa Viviani 999104224 ou ainda através dos nossos respectivos e-mails: paula.dalb@gmail.com ou vivianidemarco@gmail.com e remarcar com pelo menos 24 horas de antecedência.
- 4- Todos os exames propostos no trabalho deverão ser realizados, sem exceção.

Caso haja o descumprimento de uma das regras, o animal poderá ser excluído do projeto.

Em qualquer etapa do estudo, o tutor terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimentos de dúvidas sobre o mesmo. O principal investigador é a médica veterinária e Professora Doutora Viviani De Marco e a aluna Paula de Albuquerque que podem ser encontradas pelos telefones acima citados. Caso o tutor tenha alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP-UNISA) – Rua Prof, Enéas de Siqueira Neto, 340, Jardim das Imbuías, Sp – Telefone: (11) 5929-5477, Fax: (11) 520-9160;

É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar no estudo, sendo que o animal não terá direito de realizar gratuitamente os exames de rotina.

As informações obtidas serão analisadas em conjunto com as de outros animais, e não serão divulgadas a identificação de nenhum animal e o nome do canil envolvido. O proprietário tem o direito de ser mantido atualizado sobre os resultados que sejam de conhecimento do pesquisador.

Em caso de dano ao animal diretamente causado pelos procedimentos propostos nesse estudo comnexo causal comprovado, o proprietário tem direito á exigir tratamento médico ao animal na instituição, bem como as indenizações legalmente estabelecidas.

O pesquisador se compromete a utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Nome do tutor do animal:

R.G:

CPF:

Assinatura:

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, _____, portador do registro geral _____ acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo sobre “Tratamento da hiperlipidemia primária com ácidos graxos poli-insaturados Omega-3 e dieta hipocalórica em cães da raça Schnauzer miniatura”.

Discuti com **Paula de Albuquerque** sobre a minha decisão em participar desse estudo.

Ficaram claros para mim quais são os objetivos do estudo em questão, critérios de aceitação e exclusão tais como as regras de manutenção do estudo. Ficaram claros os procedimentos que virão a ser realizados, os desconfortos que poderão ser acarretados, inclusive seus riscos, e a garantia de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes.

Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas em relação aos procedimentos descritos na Carta de Informação e que tenho garantia de tratamento hospitalar ao meu animal quando os procedimentos experimentais comprovadamente lhe trouxerem danos.

Concordo voluntariamente em participar deste estudo, e poderei retirar meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízos ou ainda sem perda do meu atendimento neste serviço.

Assinatura do tutor

Data: / /

Assinatura da testemunha

Data: / /

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido do proprietário do estabelecimento em questão para a participação neste estudo.

Assinatura do pesquisador responsável pelo estudo