



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI
“FEDERICO II”



DOTTORATO IN SCIENZE VETERINARIE
XXXII CICLO

TESI

“Impiego della carne di bufala nella gestione alimentare del cane obeso”

Candidato

Dr. Molinaro Giuseppe

Tutor

Prof. Gaetano Oliva

INDICE

Abstract

Parte generale

1. L'obesità nel cane

1.1. Razza e aspetti genetici

1.2. Sesso e sterilizzazione

1.3. Età

1.4. Alimentazione

1.5. Sedentarietà

1.6. Fattori legati al proprietario

1.7. Endocrinopatie

1.8. Farmaci

1.9. Infezioni

1.10. Patologie ipotalamiche

1.11. Disturbi comportamentali

2. Stato di nutrizione e composizione

corporea 2.1. Peso corporeo

2.2. BCS

2.3. Sistema morfometrico

2.4. Radiografia ed ecografia

2.5. Dual Energy X-ray Absorptiometry (DEXA)

2.6. Analisi dell'impedenza bioelettrica (BIA)

2.7. Diluizione degli isotopi pesanti

2.8. Dosaggio della leptina

2.9. Near Infrared Interreactance (NIR)

3. Patologie correlate all'obesità

3.1. Insulino-resistenza

3.2. Dislipidemia

3.3. Sindrome metabolica

3.4. Pancreatite acuta

3.5. Patologie epatobiliari

3.6. Patologie gastrointestinali

3.7. Malattia cardiovascolare

3.7.1 Ipertensione arteriosa sistemica nell'uomo

3.7.2 Rimodellamento e alterazioni funzionali del miocardio nell'uomo

3.7.3 Malattia ateromasica dell'uomo

3.7.4 Cardiopatia ischemica dell'uomo

3.7.5 Stasi venosa nell'uomo

3.7.6 Malattia cardiovascolare nel cane

3.8. Malattie respiratorie

3.9. Malattie dermatologiche

3.10. Malattie urinarie

3.11. Malattie riproduttive

3.12. Malattie ortopediche

3.13. Malattie neurologiche

3.14. Malattie neoplastiche

3.15. Rischio anestesilogico

3.16. Rischio chirurgico

4. Tessuto adiposo e

adipochine 4.1. Leptina

4.2. Adiponectina

4.3. Fattore di Necrosi Tumorale – alfa (TNF- α)

4.4. Interleuchina 6 (Il-6)

5. Trattamento dell'obesità

6. Introduzione

7. Materiali e metodi

7.2. Raccolta delle informazioni nutrizionali

7.3. Anamnesi ed esame clinico

7.4. Indagini ematobiochimiche

7.5. Indagini strumentali

7.5.1 Misurazione pressione arteriosa

7.5.2 Esame elettrocardiografico

7.5.3 Esame ecocardiografico

7.6. Trattamento dietetico con carne di bufalo (gruppo Studio)

7.7. Analisi statistica

8. Risultati

9. Discussioni

10. Conclusioni

11. Bibliografia

ABSTRACT

L'obesità ed il sovrappeso possono avere gravi conseguenze per la salute del cane, riducendo l'aspettativa e la qualità della vita, aumentando il rischio di malattie gravi, oltre al peggioramento di eventuali condizioni preesistenti. La perdita di peso rappresenta, quindi, uno degli aspetti fondamentali per il controllo e la prevenzione di molte condizioni patologiche legate all'obesità.

Lo scopo del presente studio è stato quello di valutare l'efficacia dietetica della carne bufalina, le cui qualità organolettiche, dietetiche e nutrizionali sono diverse dalle altre carni rosse utilizzate nella dieta del cane, nella gestione alimentare delle malattie per le quali l'assunzione di lipidi deve essere necessariamente ridotta. Sono stati arruolati 17 cani obesi che sono stati sottoposti a tempo 0 a: i) determinazione dello stato nutrizionale e del peso corporeo, ii) esame clinico, iii) prelievo di sangue, iv) misurazione della pressione arteriosa, v) esame elettrocardiografico ed ecocardiografico. I soggetti sono stati suddivisi in 2 gruppi omogenei: 9 cani sono stati inseriti in un gruppo Studio e 8 cani in un gruppo Controllo. Ad ogni soggetto del gruppo Studio è stata prescritta una dieta personalizzata a base di carne bufalina, da somministrare per un periodo di 3 mesi, al termine dei quali i cani sono stati nuovamente sottoposti alle indagini effettuate al tempo 0. I cani del gruppo controllo, invece, nello stesso arco temporale hanno mantenuto invariata dieta e abitudini alimentari. Al termine dello studio, l'esame clinico dei cani sottoposti a dieta ha evidenziato una riduzione del BCS in tutti i soggetti, accompagnata da una riduzione delle misurazioni della vita e del collo, mancanza di affanno e di difficoltà nel movimento. Non sono invece state riscontrate differenze statistiche significative tra i cani dei due gruppi, per quanto riguarda i parametri ematobiochimici e cardiologici considerati.

Come già dimostrato da diversi studi in medicina umana, la carne di bufalo potrebbe rappresentare una valida alternativa dietetica nelle malattie caratterizzate da obesità, dislipidemia e alterazioni cardiovascolari.

Il presente studio andrebbe considerato come preliminare, da riproporre ad un più vasto campione di soggetti e per periodi più lunghi. Una valida alternativa potrebbe essere l'utilizzo della carne bufalina per formulazioni commerciali, sottoforma di croccantini e/o scatolette, che sicuramente riscontrerebbero una maggiore compliance da parte dei proprietari. In tal modo si potrebbero

approfondire meglio i suoi effetti benefici nei cani affetti non solo da obesità, patologie metaboliche e cardiache, ma eventualmente anche in soggetti allergici, utilizzando la carne bufalina come “nuova” fonte proteica, essendo risultata la stessa, tra l’altro, estremamente appetibile.

ABSTRACT

Obesity can have serious consequences for dog's health, reducing life expectancy and quality of life, increasing the risk of serious diseases, as well as worsening any pre-existing conditions. Therefore, weight loss has a pivotal role both for treatment, control and prevention of many pathological conditions related to obesity. The purpose of the present study was evaluating the dietary efficacy of buffalo meat in the food management of diseases for which the intake of lipids must be necessarily reduced. At Time 0, 17 obese dogs were enrolled and submitted to: i) determination of nutritional status and body weight, ii) clinical examination, iii) blood sampling, iv) blood pressure measurement, v) electrocardiographic and echocardiographic examination. Dogs were divided into 2 homogeneous groups: 9 subjects were included in a study group and 8 in a control group. Each dog of the Study group was submitted to a specific diet based on buffalo meat, for a period of 3 months, and at the end of the period was examined again. Dogs of the control group, for the same period, kept their diet and eating habits unchanged. At the end of the study, the clinical examination of dogs submitted to the diet showed a reduction in BCS for all of them, accompanied by improvement of clinical conditions. On the other hand, no significant statistical differences were found between the dogs of the two groups when the clinicopathological alterations and cardiological parameters were compared. As already shown by several studies in human medicine, buffalo meat could represent a valid dietary alternative in diseases characterized by obesity, dyslipidemia and cardiovascular alterations. The present study should be considered as preliminary and it should be proposed to a larger sample of dogs and for longer period. A valid future alternative could be using buffalo meat for commercial formulations, which would surely find greater compliance by the owners. In this way, its beneficial effects could be better investigated in dogs affected not only by obesity, metabolic and cardiac pathologies, but maybe also in allergic subjects, using the same as a "new" protein source.

PARTE GENERALE

1. L' obesità nel cane

L'obesità è definita come una condizione di bilancio energetico positivo che porta a un aumento di peso corporeo attraverso un accumulo di tessuto adiposo, con conseguenze negative sullo stato di salute dell'individuo. Essa è la più comune forma di malnutrizione negli animali d'affezione dei paesi industrializzati. Il bilancio energetico positivo può derivare da un aumento dell'ingestione di cibo, da una riduzione dell'attività fisica o da un rallentamento del metabolismo basale. Si considerano obesi i cani che hanno un eccesso di almeno il 15% del loro peso ideale, anche se si tende a distinguere la condizione di sovrappeso, dall'obesità vera e propria. Se l'eccesso di peso è del 10-20% si considera l'animale sovrappeso, se invece supera il 20% si parla di obesità (Simpson et al., 1993).

Nei paesi industrializzati l'obesità canina raggiunge prevalenze molto elevate, comprese tra il 24% e il 41% (Tab.1). L'incidenza di tale condizione nutrizionale è correlata a razza, sesso, età, alimentazione, sedentarietà, sterilizzazione, presenza di endocrinopatie, trattamenti farmacologici e aspetti sociali. Questo dimostra che, al determinismo dell'obesità, concorrono sia fattori genetici che ambientali (Mason, 1970; Meyer et al., 1978; Edney e Smith, 1986; Armstrong e Lund, 1996; Dixon et al., 1999; Robertson, 2003; McGreevy et al., 2005; Colliard et al. 2006; Mussa et al., 2006; Cho et al., 2013).

<i>Bibliografia</i>	<i>Paese</i>	<i>Dimensioni del campione</i>	<i>Prevalenza</i>
Mason, 1970	Inghilterra	1000	28%
Meyer et al., 1978	Germania	266	30%

Edney e Smith, 1986	Inghilterra e Scozia	8268	24 %
Armstrong e Lund, 1996	USA	23000	25%
Robertson, 2003	Australia occidentale	860	25%
McGreevy et al., 2005	Australia	2661	41%
Colliard et al., 2006	Francia	616	39%
Mussa et al., 2006	Italia	350	35%

Tab.1: Prevalenza di obesità nella popolazione canina in diversi paesi.

1.1 Razza e aspetti genetici

La razza è un importante fattore di rischio nell'eziopatogenesi dell'obesità. Nel Regno Unito l'obesità è più frequente nelle razze Labrador e Golden Retriever, Cairn Terrier, Cocker Spaniel, Bassotto Tedesco, Pastore delle Shetland, Basset Hound, Cavalier King Charles Spaniel, Beagle, Rottweiler, Scottish Terrier, Carlino, Dalmata e Collie (Mason, 1970; Edney e Smith, 1986). In Germania, la maggiore incidenza di obesità è stata riscontrata in Boxer, Cocker Spaniel, Bassotti, Barboncini e Spitz (Meyer et al., 1978). In Francia è stato dimostrato che le razze Retriever sono più a rischio di obesità. (Colliard et al. 2006). Negli USA sono più colpite le razze Pastore delle Shetland, Bassotto Tedesco, Cocker Spaniel, Dalmata, Rottweiler, Labrador e Golden Retriever (Lund et al., 2006). Altre razze predisposte sono il Terranova, il San Bernardo e il bovato del Bernese. Le razze a minor rischio di obesità sono rappresentate da: Dobermann, Alano, Pastore Tedesco, Yorkshire Terrier, Pechinese e Levrieri. Anche i meticci sembrano essere meno predisposti. Questa differente predisposizione all'obesità che si osserva nelle varie razze suggerisce l'importanza dei fattori genetici (Edney e Smith, 1986; Diez e Nguyen, 2006).

Nell'uomo sono state individuate diverse mutazioni genetiche responsabili della familiarità per l'obesità. Le forme più comuni di obesità sono causate dalla mutazione di più geni, più rare quelle derivanti dalla mutazione di un solo gene.

Una di queste è la mutazione in omozigosi del gene per il recettore della leptina (*LEPR*), che risulta essere funzionalmente inattivo per la mancanza dei domini transmembranario e intracellulare, in cui si verifica una condizione di leptinoresistenza che è associata a obesità, ipogonadismo e ipotiroidismo (Clement et al., 1998).

La mutazione autosomica recessiva del gene *POMC* è caratterizzata da obesità, cute chiara e capelli rossi per il deficit di pro-opiomelanocortina e di alfa-MSH. In questa condizione si verifica anche una carenza di ACTH che è causa di crisi surrenaliche (Cama e Cama, 2010).

Il gene *MC4R*, codificante per il recettore 4 della melanocortina, può essere un fattore di rischio per l'obesità quando presente in determinate varianti alleliche o quando sede di mutazioni ed è una condizione più frequente poiché sono sufficienti anche mutazioni di un singolo allele (Santini et al. 2009, Alfieri et al. 2010).

La mutazione autosomica recessiva del gene *LEP*, codificante per la leptina è associata a grave obesità, polifagia, alterato sviluppo puberale e diabete. Questi pazienti hanno giovamento dalla somministrazione di leptina esogena.

Altri geni coinvolti sono *UPC-2* e *UPC-3* che codificano per le proteine di disaccoppiamento mitocondriale espresse negli adipociti bianchi e in altri tessuti, alcune loro varianti sono associate all'obesità e a alla sindrome metabolica correlata (Fleury et al., 1997; Schrawen et al., 1999).

Il deficit della pro-ormone convertasi 1 (PC1) è associato a obesità, ipogonadismo, ipocortisolemia. La PC1 è un'endoproteasi che agisce clivando vari substrati quali la proinsulina, il proglucagone e la pro-opiomelanocortina.

Il deficit del fattore di trascrizione single-minded 1 (SIM1) è associato a obesità e ritardo di sviluppo psicomotorio. Il SIM1 è un bersaglio dell'alfa-MSH.

Il deficit del recettore tirosin chinasi neurotrofico di tipo 2 (NTRK2) è associato a obesità, polifagia, ritardo psicomotorio, iperattività e perdita della memoria a breve termine. Il NTRK2 è il recettore del Brain-derived neurotrophic factor (BDNF), molecola ad azione anoressizzante.

L'obesità è presente, inoltre, in corso di diverse sindromi. La più comune è la sindrome di Prader-Willi, altre più rare sono quella di Bardet-Biedl, di Alstrom, di Borjeson-Forssman-Lehmann e di

Cohen. La sindrome di Prader-Willi è caratterizzata da obesità, iperfagia, ipogonadismo terziario e ritardo mentale. La sindrome di Bardet-Biedl è caratterizzata da obesità infantile, polifagia, diabete, ipertensione, insufficienza renale, retinite pigmentosa, polidattilia o sindattilia, ipo- o anosmia, ipogonadismo, dislessia e ritardo mentale. La sindrome di Alstrom è caratterizzata da obesità infantile, diabete, ipertrigliceridemia, cecità, sordità, ipogonadismo maschile, cardiomiopatia dilatativa, disfunzione epatica, ipotiroidismo e insufficienza renale. La sindrome di Borjeson-Forssman-Lehmann è data da obesità, ritardo mentale, ginecomastia, macrocefalia. La sindrome di Cohen è caratterizzata da obesità, ritardo mentale, anomalie cranio-facciali, delle mani e dei piedi e neutropenia (Hofker e Wijmenga, 2009; Cama e Cama, 2010).

Gli aspetti genetici dell'obesità del cane sono in parte sovrapponibili a quelli dell'obesità nell'uomo.

Nel beagle è stata dimostrata una correlazione tra obesità e la presenza di polimorfismi di singoli nucleotidi (SNP) non-sinonimi nel gene *MC4R* (Zeng et al. 2014).

In cani Labrador Retriever con ipercolesterolemia sono state individuate mutazioni puntiformi di *UPC-2* e di *UPC-3* (Ugadawa et al., 2014).

Nel 2016 è stata individuata una delezione frame-shift del gene *POMC*, codificante per la proopiomelanocortina, associata con peso corporeo, condizioni fisiche e comportamento alimentare in Labrador Retriever e Flat-Coated Retriever, che hanno un antenato comune, probabilmente il Terranova di Saint John, antica razza di lavoro. La mutazione è presente in circa un quarto della popolazione dei Labrador. La pro-opiomelanocortina ha azione anoressizzante ed è precursore degli ormoni stimolanti i melanociti (MSH). La riduzione degli MSH che deriva dalla mutazione di *POMC*, porta alla riduzione dell'effetto anoressizzante per la mancata stimolazione del recettore melanocortinico 4 (*MC4R*), espresso dai neuroni anoressigeni del nucleo paraventricolare (Raffan et al., 2016).

1.2 Sesso e sterilizzazione

L'obesità è più frequente nelle femmine rispetto ai maschi: le cagne hanno una composizione corporea con una maggiore massa grassa e consumano il 15% di energia in meno per unità di peso

corporeo. Nei soggetti anziani con età superiore ai 12 anni non c'è differenza in funzione del sesso. (Mason, 1970; Meyer et al., 1978; Edney e Smith, 1986; McGreevy et al., 2005)

Nei cani sterilizzati l'incidenza dell'obesità è quasi doppia rispetto a quella dei cani interi. La diminuzione dei livelli circolanti degli ormoni gonadici porta al calo del metabolismo basale e dei fabbisogni energetici, a una riduzione del movimento volontario e a un aumento dell'appetito per la perdita dell'effetto anoressizzante. Uno studio ha dimostrato che in cagne intere alimentate ad libitum, il massimo apporto calorico giornaliero si ha durante il periodo anestrato, mentre il minimo durante l'estro, per l'effetto anoressizzante svolto dagli estrogeni. Un altro studio ha invece evidenziato che al fine di prevenire l'incremento ponderale dopo la sterilizzazione in cagne ovarioisterectomizzate di razza Beagle occorre una riduzione del 30% del fabbisogno energetico (Haupt et al., 1979; Edney e Smith 1986; Heidenberger e Unshelm, 1990; Robertson, 2003; Jeusette et al., 2004; McGreevy et al., 2005; Jeusette et al., 2006).

1.3 Età

La distribuzione dell'obesità nella popolazione canina è correlata anche all'età. La prevalenza di obesità aumenta per ogni anno di età, fino a raggiungere un picco intorno ai 10 anni. Nei cani di età più avanzata tale prevalenza si riduce notevolmente e una buona parte di essi risulta essere sottopeso. L'obesità giovanile risulta essere un significativo fattore di rischio per l'obesità in età adulta, legata prevalentemente alla riduzione dei fabbisogni energetici e al rallentamento del metabolismo basale. La minore percentuale nei soggetti anziani è spesso legata al peggioramento dell'efficienza dei meccanismi digestivi. Altri studi ritengono, invece, che essa sia la conseguenza della ridotta aspettativa di vita dei cani obesi (Mason, 1970; Meyer et al., 1978; Armstrong e Lund, 1996; Glickman et al., 1995; Yeh e Schuster, 1999; Kealy et al., 2002; Robertson, 2003; Laflamme, 2005; McGreevy et al., 2005; Lund et al., 2006).

1.4 Alimentazione

L'errata gestione alimentare del cane è il fattore di rischio più importante nel determinismo dell'obesità. La razione alimentare deve essere formulata sulla base dei fabbisogni energetici dell'animale, correlati a età, razza, sesso, sterilizzazione, stati fisiologici o patologici particolari, stili di vita e condizioni ambientali. Il soggetto giovane ha fabbisogni energetici superiori rispetto all'adulto poiché, in aggiunta al fabbisogno energetico di mantenimento, va considerato quello di accrescimento. Nei soggetti anziani, il peggioramento dell'efficienza dei meccanismi digestivi può portare a una riduzione di peso, per cui sarà necessaria una ridefinizione della razione alimentare. Le femmine hanno fabbisogni energetici più bassi rispetto ai maschi, in quanto dotate di una diversa composizione corporea e perché consumano il 15% di energia in meno per unità di peso corporeo rispetto ai maschi. Animali sterilizzati, invece, hanno fabbisogni energetici più bassi rispetto a quelli interi. Cagne nell'ultimo terzo di gravidanza o in lattazione hanno fabbisogni più elevati rispetto a quelle non gravide e non in lattazione. Animali che compiono attività fisica regolare hanno fabbisogni più elevati rispetto a quelli sedentari che variano in funzione dell'intensità e della durata dell'attività svolta. Condizioni ambientali di freddo o caldo intenso richiedono un aumento del fabbisogno energetico giornaliero per il dispendio energetico dovuto alla termoregolazione.

Gli errori alimentari sono dunque dovuti al superamento dei fabbisogni energetici, spesso realizzato attraverso la somministrazione di quantità eccessive di alimenti a elevata densità energetica e appetibilità. L'alimento può essere sia casalingo che commerciale purché sia correttamente bilanciato dal punto di vista nutrizionale. La suddivisione della razione in tre o più pasti è correlata a un minor rischio di obesità rispetto alla singola somministrazione giornaliera o all'alimentazione ad libitum. Occorre inoltre scoraggiare la somministrazione di snack extra-pasto ad alta densità energetica che possono favorire il raggiungimento del bilancio energetico positivo e quindi dell'obesità (Mason, 1970; Heindenberger e Unshelm 1990; Kealy et al., 2002; Robertson, 2003; Diez e Nguyen, 2006; Lund et al., 2006).

1.5 Sedentarietà

Altro fattore di rischio dell'obesità è sicuramente l'assenza di esercizio fisico regolare. I cani che non eseguono un'attività fisica giornaliera, sono più predisposti alla condizione di bilancio energetico

positivo e al consecutivo accumulo di tessuto adiposo rispetto a quelli che fanno regolare esercizio fisico. L'esercizio fisico, inoltre, sensibilizza il muscolo all'azione dell'insulina e questo contribuisce a prevenire l'insulino-resistenza. La principale causa di sedentarietà è da ricercare nelle abitudini del proprietario e nel confinamento in casa. Va considerata comunque anche la sterilizzazione, che porta a una riduzione dell'esercizio fisico volontario e le patologie muscolo-scheletriche, per la situazione algogena spesso concomitante. I cani che vivono in appartamento sono più predisposti rispetto a quelli che vivono all'aperto (Edney e Smith, 1986; Heindenberger e Unshelm, 1990; Slater et al., 1995; Robertson, 2003; Marshall et al., 2009; Cama e Muraro, 2010).

1.6 Fattori legati al proprietario

I cani posseduti da proprietari obesi hanno maggiore incidenza di obesità rispetto a quelli posseduti da proprietari normopeso. Anche i cani posseduti da proprietari di età superiore ai 40 anni hanno una maggiore incidenza di obesità. Più di un terzo dei proprietari di cani obesi considera il proprio animale normopeso e molti di essi considerano l'obesità non come una patologia ma come segno di benessere del proprio animale. Alcuni proprietari somministrano eccessive quantità di alimento per compensare carenze relazionali o per l'incapacità di opporsi alle richieste di cibo da parte dell'animale. I cani che vivono in ambiente domestico con due o più conspecifici hanno una minore probabilità di essere obesi probabilmente per il dispendio energetico derivante dalle attività di gioco con gli altri cani. I cani che sono tenuti in appartamento sono predisposti all'obesità perché hanno un minore dispendio energetico per la termogenesi rispetto a quelli che vivono all'aperto (Mason, 1970; Parkin, 1994; Kienzle et al., 1998; Robertson, 2003; German, 2015).

1.7 Endocrinopatie

L'obesità può essere causata anche da alcune endocrinopatie quali l'iperadrenocorticismo, l'ipotiroidismo o l'ipopituitarismo. Nell'ipotiroidismo, alla base dell'accumulo di tessuto adiposo, vi è la diminuzione del metabolismo basale e del movimento. Nell'iperadrenocorticismo la causa è da ricercare nella polifagia, dovuta all'azione oressizzante dei glucocorticoidi a livello ipotalamico e nello stimolo alla deposizione dei lipidi nel tessuto adiposo. Altri disordini endocrini di rado associati

all'obesità sono l'insulinoma e l'acromegalia. L'insulinoma provoca un'aumentata deposizione di grasso e una polifagia che è conseguente alle crisi ipoglicemiche. L'acromegalia porta ad aumento non solo del tessuto adiposo, ma anche di quello muscolare e osseo (Dixon et al. 1999, Cho et al. 2013).

1.8 Farmaci

Vi sono anche alcuni farmaci caratterizzati per avere effetti collaterali quali l'aumento di appetito e di peso corporeo, nonché la riduzione di dispendio energetico. Tra questi si ricordano i farmaci anticonvulsivanti come il primidone, il fenobarbitale e la fenitoina, gli antipsicotici come le fenotiazine, gli antidepressivi, gli antiipertensivi alfabloccanti, i glucocorticoidi e i progestinici. Alcuni antistaminici possono dare obesità quando contrastano l'azione centrale dell'istamina, ad effetto anoressizzante e quando provocano sedazione riducendo il movimento. I glucocorticoidi hanno un'azione centrale oressizzante e un'azione periferica che stimola la deposizione di lipidi all'interno del tessuto adiposo e favorisce l'insulino-resistenza. La somministrazione di insulina, in pazienti insulino-resistenti, può favorire l'obesità quando l'effetto anoressizzante della molecola è inibito dalla resistenza recettoriale, mentre è conservato l'effetto di inibizione della lipolisi e di stimolo alla sintesi di trigliceridi nel tessuto adiposo (German, 2006; Cama e Cama, 2010).

1.9 Infezioni

Negli animali da laboratorio sono stati descritti diversi virus capaci di indurre obesità. Ad esempio, il virus della malattia di Borna del cavallo e della pecora induce obesità se inoculato nel topo e il virus Rous-associato 7 causa arresto della crescita, obesità, ipercolesterolemia e steatosi epatica nel pollo. L'agente eziologico della scrapie è stato associato a obesità nei topi e nei criceti. Anche lo SMAM-1, un adenovirus aviario e l'adenovirus 36 dell'uomo sono stati riportati come causa di obesità negli animali da laboratorio (Dhurandar, 2001).

Nell'uomo si ipotizza che alcuni adenovirus, in particolare l'adenovirus 36, possano essere coinvolti nel determinismo dell'obesità (Atkinson, 2005, 2007, 2008; van Ginneken et al., 2009).

Nel cane, invece, è stata avanzata l'ipotesi di un possibile ruolo del virus del cimurro. Esso sarebbe in grado di indurre obesità nel topo in cui è stata dimostrata un'associazione, a livello ipotalamico, tra l'espressione dei trascritti e la riduzione dei recettori della leptina e la down-regulation degli mRNA del precursore dell'ormone concentrante la melanina (MHC). Dal momento che l'effetto anoressizzante della leptina è mediato dai recettori ipotalamici, si ipotizza che, i cani che abbiano superato il cimurro, possano avere una maggiore predisposizione all'obesità (Bernard et al. 1993,1999; Friedman e Halaas 1998, Verlaeten, 2001).

1.10 Patologie ipotalamiche

Le lesioni dei nuclei ipotalamici che regolano l'appetito e il dispendio energetico possono anch'essi essere causa di obesità. Ad esempio: lesioni bilaterali del nucleo ipotalamico ventromediale, sono associate a polifagia e obesità, se l'animale può disporre di alimento ad libitum. Le lesioni possono essere causate da processi infiammatori e infettivi, traumi, neoplasie, interventi neurochirurgici e radioterapia (Cama e Cama, 2010). Anche la sindrome di Froelich o distrofia adiposo-genitale è una condizione patologica caratterizzata da obesità e ipogonadismo terziario ed è causata da lesioni del nucleo ipotalamico ventromediale e del sistema tuberoinfundibolare, indispensabile per la stimolazione delle gonadi da parte dell'adenipofisi. Questa sindrome è stata descritta in concomitanza al diabete insipido in cani con neoplasie encefaliche come il craniofaringioma e l'infundibuloma (Saunders et al., 1951; Saunders e Richard, 1952).

1.11 Disturbi comportamentali

Nell'uomo le patologie psichiche possono associarsi a obesità sia quando causano polifagia che come conseguenza dei trattamenti farmacologici con antipsicotici e antidepressivi (Cama e Cama, 2010).

2. Stato di nutrizione e composizione corporea

Lo stato di nutrizione è la condizione derivante dall'assunzione di alimenti, di assorbimento e utilizzazione dei principi nutritivi in essi contenuti. Per stimare lo stato di nutrizione dell'animale, il clinico ricorre a diversi sistemi, quali la misurazione del peso corporeo, i sistemi morfometrici o il *body condition score*.

Ci sono inoltre indagini collaterali che possono essere impiegate per determinare lo stato di nutrizione e la composizione corporea, considerata normale nel cane se presente il 15-20% di massa grassa. Tali indagini sono l'esame radiografico ed ecografico, la tomografia assiale computerizzata (TAC), la risonanza magnetica nucleare (RMN), la Dual Energy X-ray Absorptiometry (DEXA), e la tecnica di diluizione degli isotopi pesanti. Queste metodiche, pur essendo più accurate, non vengono adoperate di routine nella pratica clinica veterinaria per i costi elevati, la carente diffusione sul territorio e la necessità di anestesia per alcune di queste. L'analisi dell'impedenza bioelettrica, utilizzata nella pratica ambulatoriale nell'uomo, non appare completamente standardizzata nella specie canina. Conoscere la composizione corporea è fondamentale per individuare i soggetti obesi ma anche per monitorarli durante il programma di dimagrimento al fine di confermare la riduzione della massa grassa e il mantenimento di quella magra. La maggior parte delle tecniche citate è basata sul modello bicompartimentale secondo cui l'organismo è distinto in massa grassa e massa senza grasso. Da questo è possibile ottenere il modello tricompartimentale, suddividendo la massa senza grasso in massa magra e massa minerale, impiegato ad esempio nell'esame DEXA. La composizione corporea è variabile in funzione della razza. I levrieri, ad esempio, hanno una maggiore percentuale di massa magra, i Siberian Husky, invece hanno una maggiore quantità di massa grassa (Burkholder, 1994, 2001; Lauten et al., 2001; Speakman et al., 2003; Mawby et al., 2004).

2.1 Peso corporeo

Il peso corporeo, espresso in kilogrammi, non consente di esprimere una valutazione accurata dello stato nutrizionale, risentendo delle variazioni di tutti i tessuti dell'organismo. Infatti, esso è maggiore in caso di accumulo di tessuto adiposo ma può aumentare anche in altre condizioni fisiologiche, come in caso di ipertrofia muscolare in cani atleti o patologiche, come la presenza di

ascite. Inoltre, la sola determinazione del peso corporeo rende difficile la determinazione del grado di sovrappeso nei cani meticci, nei quali non è possibile riferirsi ad un peso ideale diversamente dai cani di razza pura (Jeusette et al., 2010).

2.2 BCS

Il *body condition score* o punteggio di condizione corporea è un metodo soggettivo che ci permette di effettuare una valutazione semiquantitativa sullo stato di nutrizione dell'animale, attraverso un esame ispettivo e palpatorio. Il cane viene osservato in stazione quadrupedale, sia lateralmente che dall'alto, la palpazione, invece, interessa soprattutto le prominenze ossee. I sistemi più comunemente utilizzati sono quelli a 5 e a 9 punti.

Nel sistema a 5 punti, punteggi da 1 a 2 indicano condizioni di magrezza, punteggio pari a 3 di peso ideale e punteggi da 4 a 5 condizioni di sovrappeso e obesità.

Nel sistema a 9 punti, punteggi da 1 a 3 indicano condizioni di magrezza, punteggi da 4 a 5 di peso ideale, punteggi da 6 a 9 condizioni di sovrappeso e obesità. Questo sistema è stato validato con l'esame DEXA e la variazione del punteggio di un punto corrisponde alla perdita o all'incremento del 10-15% di peso corporeo (Laflamme 1997).



Fig. 1: Body condition score del cane, sistema a 5 punti.

Linee guida per il BCS a 9 punti nel cane:

1: Le coste, le vertebre lombari, le ossa pelviche e tutte le prominenze ossee sono visibili a distanza, il grasso corporeo non è visibile, è evidente la perdita di massa muscolare.

2: Le coste, le vertebre lombari, le ossa pelviche sono facilmente visibili, il grasso non è palpabile, sono evidenti alcune prominenze ossee, la perdita di massa muscolare è minima.

3: Le coste possono essere visibili e sono facilmente palpabili in assenza di tessuto adiposo. Sono visibili i processi spinosi delle vertebre lombari, le ossa pelviche sono piuttosto prominenti. Ad un'osservazione dall'alto il restringimento e la curvatura dell'addome sono evidenti.

4: Le coste sono facilmente palpabili con una minima presenza di grasso. Ad un'osservazione dall'alto si nota facilmente il restringimento addominale e la curvatura dell'addome è evidente.

5: Le coste sono palpabili, senza eccesso di copertura adiposa. Dall'alto è visibile il restringimento addominale dietro le coste. All'esame laterale è visibile l'addome incurvato verso l'alto.

6: Le coste sono palpabili, con un lieve eccesso di copertura adiposa. Il restringimento addominale è distinguibile dall'alto, ma non è marcato. La curvatura dell'addome è visibile.

7: Le coste sono palpabili con difficoltà per la abbondante copertura di grasso. Si notano considerevoli depositi di grasso nell'area lombare ed alla base della coda. Il restringimento

addominale è assente e non è evidente la curvatura addominale, può essere presente un'evidente distensione dell'addome.

8: Le coste non sono palpabili, poiché ricoperte da uno spesso strato di grasso oppure sono palpabili solo esercitando una certa pressione. Notevoli depositi di grasso sono presenti nella zona lombare ed alla base della coda. Il restringimento addominale è assente, non è presente la curvatura addominale. Può essere presente un'evidente distensione addominale.

9: Sono presenti consistenti depositi di grasso a livello del torace, della colonna vertebrale e alla base della coda. Completa assenza del restringimento addominale e della curvatura addominale. Si notano depositi di grasso a livello del collo e degli arti e è evidente la distensione addominale.

BODY CONDITION SYSTEM

TOO THIN

1 Ribs, lumbar vertebrae, pelvic bones and all bony prominences evident from a distance. No discernible body fat. Obvious loss of muscle mass.

2 Ribs, lumbar vertebrae and pelvic bones easily visible. No palpable fat. Some evidence of other bony prominence. Minimal loss of muscle mass.

3 Ribs easily palpated and may be visible with no palpable fat. Tops of lumbar vertebrae visible. Pelvic bones becoming prominent. Obvious waist and abdominal tuck.

IDEAL

4 Ribs easily palpable, with minimal fat covering. Waist easily noted, viewed from above. Abdominal tuck evident.

5 Ribs palpable without excess fat covering. Waist observed behind ribs when viewed from above. Abdomen tucked up when viewed from side.

TOO HEAVY

6 Ribs palpable with slight excess fat covering. Waist is discernible viewed from above but is not prominent. Abdominal tuck apparent.

7 Ribs palpable with difficulty; heavy fat cover. Noticeable fat deposits over lumbar area and base of tail. Waist absent or barely visible. Abdominal tuck may be present.

8 Ribs not palpable under very heavy fat cover, or palpable only with significant pressure. Heavy fat deposits over lumbar area and base of tail. Waist absent. No abdominal tuck. Obvious abdominal distention may be present.

9 Massive fat deposits over thorax, spine and base of tail. Waist and abdominal tuck absent. Fat deposits on neck and limbs. Obvious abdominal distention.

The BODY CONDITION SYSTEM was developed at the Health Partners Pet Care Center and has been validated as documented in the following publications:

Mawby D, Berger JW, Meyer T, et al. Comparison of body fat estimates by dual energy x-ray absorptiometry and desferrioxamine scintigraphy in client owned dogs. *Compendium* 2001; 23 (Pt 2): 70

Luffness DP. Development and Validation of a Body Condition Score System for Dogs. *Canine Practice* July/August 1997; 22:10-13

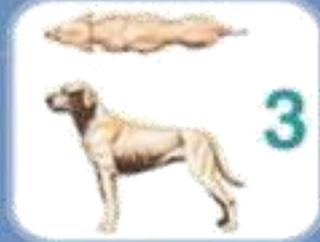


Fig.2: Body condition score del cane, sistema a 9 punti.

2.3 Sistema morfometrico

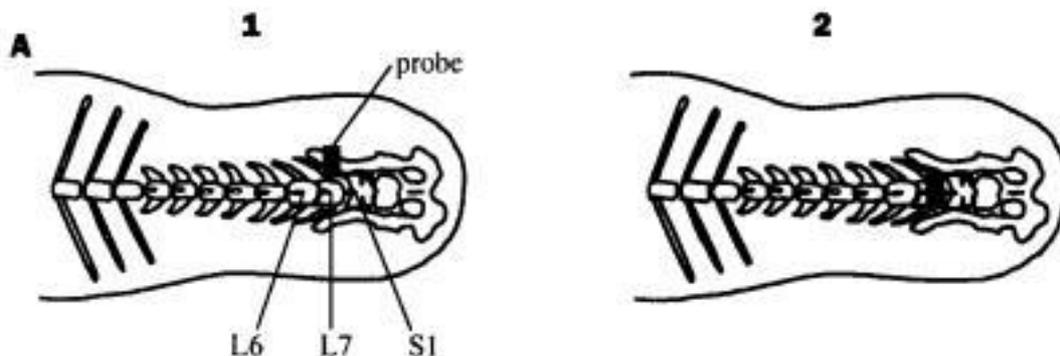
Il sistema morfometrico è molto utilizzato nell'uomo e consiste nell'effettuare delle misurazioni che consentono di stimare l'entità dei depositi adiposi. Le misurazioni effettuate più frequentemente sono la circonferenza della vita, il rapporto della circonferenza della vita e quella del bacino, la misura del peso specifico, la plicometria. Esso è molto usato anche per la determinazione dell'indice di massa corporea (BMI), dell'indice di adiposità corporea (BAI) e della percentuale di grasso corporeo (BF). La circonferenza della vita stima i depositi adiposi intra-addominali ed è correlata al rischio di diabete, dislipidemie, patologie cardiovascolari e amenorrea e iperandrogenismo nella donna. Essa può aumentare anche in corso di ascite o di meteorismo. Secondo l'American Heart Association, valori superiori a 102cm nell'uomo e a 88cm nella donna sono correlati a un maggiore rischio cardiovascolare. Secondo il Gruppo Europeo per lo Studio dell'Insulino Resistenza, i valori dovrebbero essere inferiori a 94 cm nell'uomo e a 80 cm nella donna. Il peso specifico si ottiene confrontando il peso in atmosfera con quello ottenuto immergendo il corpo in acqua, consente di ottenere la densità in grammi per centimetro cubo del corpo da cui si ricava la massa grassa. La plicometria valuta il grasso sottocutaneo misurando lo spessore delle pliche cutanee con il plicometro. Il BMI è un indice che esprime il rapporto tra il peso, espresso in chilogrammi e il quadrato dell'altezza, espresso in metri quadri. Tale indice cade all'interno di un intervallo di peso che consente di indicare il soggetto come sottopeso, normopeso, sovrappeso, obeso di medio grado e obeso di alto grado. Un BMI inferiore a 18,5 è indicativo di sottopeso, compreso tra 18,5 e 25 è considerato normale, tra 25 e 30 l'individuo è in sovrappeso, oltre 30 è obeso. Dal BMI è possibile, applicando delle formule e tenendo conto del sesso e dell'età, stimare la percentuale di grasso corporeo. Il BMI risulta non affidabile quando l'aumento del peso corporeo è dovuto a incremento delle masse muscolari o a edemi o ascite. Per quanto riguarda il BF, l'uomo è considerato obeso quando questo supera il valore ideale del 20-30% (Owen, 1988; Cama e Cama, 2010).

Nel cane il sistema morfometrico è poco adoperato per la mancata definizione di parametri oggettivi conseguente all'elevato dimorfismo razziale e alla presenza di meticci (Burkhouder, 2001). Tuttavia, uno studio prospettico ha sviluppato delle equazioni morfometriche per la stima della composizione corporea e ha creato un indice di grasso corporeo (body fat index, BFI) per la stima della percentuale di grasso corporeo nei cani sovrappeso e obesi. Sono stati inclusi 83 cani sovrappeso o obesi di età maggiore o uguale a 1 anno che sono stati sottoposti alla determinazione del body condition score (BCS) in una scala a 5 punti, alle misurazioni morfometriche, alle valutazioni visive e palpatorie per

stimare il BFI e alla DEXA (dual-energy x-ray absorptiometry) per ottenere i valori effettivi di massa magra e massa grassa. Le misurazioni morfometriche e la determinazione dell'indice di grasso corporeo si sono dimostrate più accurate rispetto al metodo del BCS a 5 punti per la stima della percentuale di grasso corporeo nei cani sovrappeso e obesi (Witzel et al., 2014).

2.4 Radiografia ed ecografia

La radiografia e l'ecografia sono utilizzate per misurare lo spessore del pannicolo adiposo sottocutaneo, a livello delle vertebre L6-L7-S1, che tende ad aumentare nei soggetti obesi. Sono indagini non invasive, di semplice esecuzione e relativamente economiche, che però trovano ancora poco impiego a tale scopo e potrebbero rappresentare una valida alternativa anche agli esami DEXA, TC e RMN per i minori costi e l'assenza della necessità di ricorrere all'anestesia. Nell'esame ecografico, la scelta della regione lombare come sito anatomico di elezione per la misurazione del pannicolo adiposo sottocutaneo, è dovuta a diversi motivi. In questa regione è più facile applicare la sonda quando l'animale è in stazione, è più agevole individuare punti di reperi anatomici e ottenere un'immagine più facilmente riproducibile. Inoltre, a livello della regione lombare, lo spessore del pannicolo adiposo sottocutaneo è tale da essere facilmente misurabile e risulta correlato al grado di obesità. Le immagini ecografiche sono ottenute mediante scansioni trasversali sovrastanti le vertebre L6-L7-S1, lungo il piano sagittale mediano (Fig.3). In uno studio su beagle obesi è stato osservato che l'aumento di peso di 1kg corrisponde a un aumento dello spessore del pannicolo adiposo sottocutaneo sovrastante L7 di 1,7 mm. (Wilkinson e McEwann, 1991; Morooka et al., 2001).





C

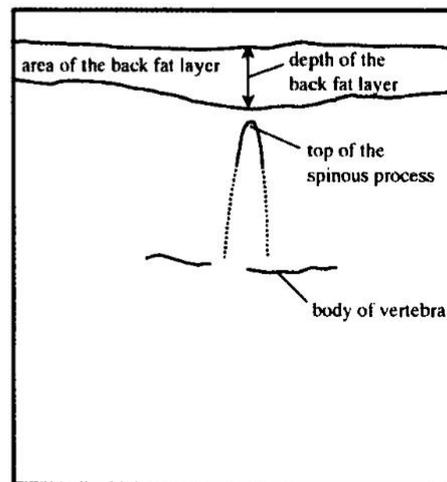
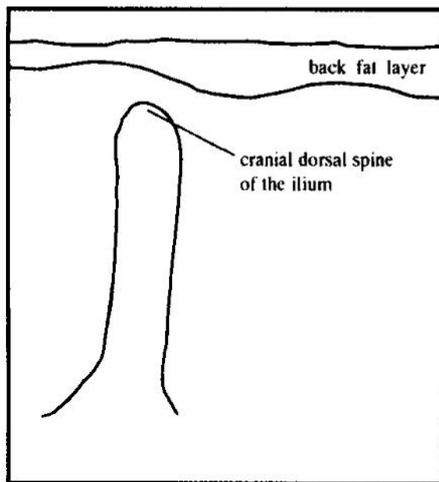


Fig.3: Approccio a livello della settima vertebra lombare (L7). La sonda è inizialmente posizionata sulla prominente dorsale craniale dell'ileo, poi spostata orizzontalmente sulla colonna vertebrale e sulla sommità del processo spinoso di L7 (1). (A): Posizione della sonda. (B): Immagini ecografiche; (C): Rappresentazione schematica dell'immagine ecografica (Da Mooroka et al., 2001).

2.5 Dual Energy X-ray Absorptiometry (DEXA)

La DEXA (Dual Energy X-ray Absorptiometry) utilizza fotoni di due differenti livelli energetici attraverso una fonte di raggi X attenuati dai tessuti del paziente. L'attenuazione è proporzionale alla densità dei tessuti e ciò permette di dare una stima della composizione corporea. La DEXA determina la massa minerale, quella magra e quella grassa dell'organismo. Essa è adoperata in

medicina umana per determinare la densità minerale ossea, al fine di rendere possibile una diagnosi precoce di osteoporosi nelle donne in menopausa.

Nel cane può essere utilizzata per determinare la composizione corporea e valutare l'efficacia della terapia dietetica nei soggetti obesi. Non è un'indagine eseguita frequentemente, poiché richiede l'anestesia generale del soggetto, ha lunghi tempi di esecuzione, costi elevati e le attrezzature sono carenti (Munday et al., 1994; Son et al., 1998; Lauten et al., 2001; Speakman et al., 2001; Mawby et al., 2004; Raffan et al., 2006).

2.6 Analisi dell'impedenza bioelettrica (BIA)

L'analisi dell'impedenza bioelettrica o impedenziometria è un metodo non invasivo e rapido, utilizzato nella pratica ambulatoriale nell'uomo, che permette di determinare la composizione corporea. L'esame prevede il posizionamento di elettrodi di superficie in diverse parti del corpo e misura la resistenza incontrata da un segnale elettrico condotto attraverso l'acqua muscolare. La resistenza è proporzionale alla percentuale di massa grassa, in quanto i tessuti magri, più ricchi di acqua, sono buoni conduttori, mentre osso e tessuto adiposo sono isolanti. L'impedenziometria fu introdotta inizialmente con lo scopo di calcolare la quantità di acqua presente nell'organismo, poi applicata alla determinazione della composizione corporea. L'analisi dell'impedenza bioelettrica, non appare completamente standardizzata nella specie canina (Burkholder, 1994).

Sullo stesso principio dell'impedenziometria si basa la tecnica TOBEC (Total body electrical conductivity) in cui il soggetto è collocato in un solenoide che genera un campo magnetico. Le variazioni di questo campo sono correlate alla composizione corporea (Ellis, 1996).

2.7 Diluizione degli isotopi pesanti

La tecnica di diluizione degli isotopi pesanti può essere utile per determinare la quantità d'acqua corporea totale (TBW) contenuta principalmente nella massa magra. Tale determinazione consente di valutare, indirettamente, la percentuale di massa grassa. A tale scopo può essere impiegato l'ossido di deuterio o l'acqua arricchita con ¹⁸. Si procede effettuando un prelievo ematico, poi si somministra il tracciante per via sottocutanea e si esegue un secondo prelievo dopo due ore. La concentrazione del tracciante è inversamente proporzionale al volume di distribuzione dell'acqua corporea. Si ricava, quindi, la TBW e da essa la percentuale di massa

magra, da cui, infine, quella di massa grassa tramite l'assunto che il 73% dei fluidi corporei è contenuto nella massa magra. Tale tecnica è poco impiegata per il costo degli isotopi e delle attrezzature impiegate per la loro titolazione (Burkholder, 1994; Son et al., 1998).

2.8 Dosaggio della leptina

La leptina risulta avere un ruolo chiave nell'obesità, in quanto responsabile della regolazione del grasso corporeo e della modulazione delle risposte infiammatorie croniche e immunitarie all'interno dei tessuti periferici. Un suo dosaggio può essere utile per stimare la composizione corporea, poiché i livelli ematici sono proporzionali alla massa adiposa, tranne nelle rare forme di obesità dovute a mutazione del gene *LEP*, in cui è presente obesità associata a ipoleptinemia (Friedman e Halaas, 1998; Sagawa et al., 2002).

2.9 Near Infrared Interreactance (NIR)

La NIR è una tecnica utilizzata talvolta per stimare la composizione corporea nell'uomo. Si utilizza una sorgente di raggi infrarossi con lunghezza d'onda attorno ai 900 nanometri che penetrano la regione bicipitale per circa un centimetro di profondità. La determinazione della composizione corporea si basa sul principio che la massa grassa assorbe più radiazione infrarossa di quella magra (Batterham, 2002).

3. Patologie correlate all'obesità

Diverse sono le patologie cui l'obesità predispone e che riducono qualità e aspettativa di vita. Esse si rendono manifeste attraverso i vari meccanismi patogenetici innescati dall'obesità come

l'insulino-resistenza, lo stress ossidativo, l'infiammazione sistemica cronica di basso grado e gli effetti meccanici secondari all'accumulo di grasso, dimostrati ampiamente anche nell'uomo.

Lo stato infiammatorio cronico è correlato all'aumentata produzione di citochine pro-infiammatorie, chemochine, fattori di crescita e associato a vari disordini, come la dislipidemia aterogena, la cardiopatia coronarica e l'infarto del miocardio, l'aterosclerosi, l'ipertensione, l'ictus, l'osteoartrite, le dermatopatie, le malattie epatobiliari, le patologie respiratorie, le alterazioni ematologiche, l'aumentata predisposizione a malattie neoplastiche come il cancro del colon, della mammella, della prostata e dell'endometrio (Simopoulou et al., 2007; Maury e Brichard, 2010).

In aggiunta alla condizione di infiammazione sistemica cronica, vi è quella di uno stato di insulino-resistenza, dovuta all'aumento dei livelli di alcune adipochine, quali la resistina, la leptina e il TNF-alfa e la riduzione dei livelli di adiponectina. Tale stato predispone quindi anche al diabete mellito di tipo 2 ed altre condizioni patologiche come l'iperuricemia, la policistosi ovarica e l'infertilità (Steppan et al., 2001; Muse et al. 2004, Rabe et al., 2008; Crujeiras e Casanueva, 2015).

Lo stress ossidativo, invece, è causato dalla produzione di sostanze reattive dell'ossigeno a livello di catena respiratoria e dalla produzione di perossido di idrogeno, derivato dalla perossidazione degli acidi grassi. Esso è chiamato in causa nella patogenesi di disturbi cardiocircolatori, affezioni delle vie urinarie, epatopatie, diabete mellito e neoplasie (Sonta et al., 2004; Furukawa et al., 2004; Cline et al., 2009; Fernandez-Sanchez et al., 2011).

Altri disturbi associati all'obesità sono quelli dovuti agli effetti meccanici derivanti dall'accumulo di tessuto adiposo, quali le alterazioni della meccanica respiratoria, come l'apnea ostruttiva notturna, che concorre nella determinazione di un aumentato rischio anestesilogico, le patologie osteo-articolari derivanti dalla maggiore sollecitazione meccanica, le distocie, la stasi venosa, le neuropatie, le ernie, il reflusso esofageo e urinario (Cama e Cama, 2010; Crujeiras e Casanueva, 2015).

Anche nel cane l'obesità ha un ruolo importante nella patogenesi di diverse patologie ed è in grado di esacerbare quelle preesistenti. Nei cani obesi vi è, infatti, una maggiore incidenza di malattie cardiovascolari, cutanee, respiratorie, endocrine, metaboliche, patologie del cavo orale, ortopediche, distocie, incontinenza urinaria nella cagna sterilizzata, costipazione, steatosi epatica,

si verifica anche uno stato di immunodepressione con aumentata suscettibilità alle malattie infettive, un aumento del rischio chirurgico e anestesilogico. Nel complesso si assiste ad una riduzione dell'aspettativa di vita. In uno studio è stato dimostrato come i cani obesi vivevano circa due anni in meno e sviluppavano più precocemente l'osteoartrite rispetto ai fratelli normopeso (Newberne 1966; Williams e Newberne 1971; Impellizeri et al., 2000; Kealy et al., 2002; Lund et al., 2006, Bach et al. 2007).

Risultati discordanti, invece, sono presenti nei vari studi sullo stato infiammatorio cronico e sulla disfunzione metabolica associata all'obesità. German et al. nel 2009 hanno dimostrato un aumento della resistenza insulinica nei cani obesi e una riduzione dei livelli plasmatici delle adipochine pro-infiammatorie e delle proteine della fase acuta, in seguito all'inizio del programma di dimagrimento. Tvarijonaviciute et al. nel 2012 hanno invece riscontrato che l'adiponectina aumenta durante il dimagrimento mentre le proteine della fase acuta, come la proteina C-reattiva, erano nell'intervallo di riferimento sia prima che dopo il dimagrimento (German et al., 2009; Tvarijonaviciute et al., 2012a).

3.1 Insulino-resistenza

Nell'uomo i soggetti obesi possono sviluppare modificazioni della secrezione di insulina e del metabolismo glucidico. Si verifica, quindi, uno stato di insulino-resistenza responsabile, proporzionalmente al grado di obesità, dell'aumento dei livelli di insulina nelle fasi iniziali e dell'intolleranza al glucosio. L'insulino-resistenza è il principale fattore di rischio per lo sviluppo del diabete mellito di tipo due, anche se non tutti gli individui sviluppano poi la malattia, in quanto le cellule beta riescono a compensare l'aumentato fabbisogno producendo più insulina. Sviluppano il diabete mellito di tipo due quei soggetti con insulino-resistenza in cui non si verifica un aumento dell'immissione in circolo dell'insulina. Ciò suggerisce che per lo sviluppo della patologia oltre all'insulino-resistenza, ci deve essere anche un deficit di secrezione insulinica che, col passare del tempo, arriva ai livelli che si possono osservare più tipicamente nel diabete mellito di tipo 1. L'iperinsulinismo presente nelle fasi iniziali dell'insulino-resistenza si oppone alla perdita di peso, favorendo le reazioni anaboliche e inibendo quelle cataboliche. Infatti l'insulina inibisce la

glicogenolisi, la lipolisi e la proteolisi e favorisce la glicogenosintesi e la sintesi di trigliceridi nel tessuto adiposo. Ciò è reso possibile dal fatto che in corso di insulino-resistenza non tutte le vie di trasduzione del segnale intracellulare sono inibite (Mattheeuws e Rottiers, 1984; Cama e Muraro, 2010). In corso di insulino-resistenza si verifica una riduzione dell'espressione, sulle membrane di adipociti e di fibrocellule muscolari striate, del GLUT-4, trasportatore di glucosio su cui agisce l'insulina. Pertanto questi tessuti non contribuiscono allo smaltimento di glucosio proveniente dall'assorbimento intestinale, con conseguente iperglicemia. Il fegato non riesce ad adattare il proprio metabolismo all'utilizzo del glucosio e continua a immetterlo in circolo nonostante l'iperglicemia. Inoltre il fegato sintetizza l'insulin-like growth factor (IGF-1) che ha una struttura molecolare simile all'insulina e potrebbe svolgere anch'esso un ruolo importante. L'inappropriata immissione di glucosio in circolo è anche dovuta agli ormoni iperglicemizzanti, come l'adrenalina, il cortisolo e il GH, la cui azione è favorita dall'insulino-resistenza e dal deficit insulinico (Cama e Muraro, 2010). L'obesità porta a un accumulo intracellulare di trigliceridi nel muscolo scheletrico e nel fegato che comporta una riduzione dell'espressione sulle membrane cellulari del GLUT-4. Nei pazienti obesi l'insulino-resistenza è dovuta, inoltre, alla riduzione dei recettori dell'insulina e al TNF- α che aumenta per effetto della riduzione dei livelli di adiponectina, molecola ad azione ipoglicemizzante, e per l'aumento delle adipochine ad azione pro-infiammatoria come la leptina e la resistina. L'adiponectina inibisce la produzione di TNF- α da parte di macrofagi e adipociti e ha un'azione insulino-sensibilizzante e insulinogoga (Xu et al., 2003; Maury e Brichard, 2010). L'insulino-resistenza si verifica anche in pazienti umani obesi con mutazioni del gene della leptina o del suo recettore (Clement et al., 1998; Friedman e Halaas, 1998; Meek e Morton, 2012). Altre molecole che concorrono al meccanismo dell'insulino-resistenza sono la resistina e il retinol binding protein 4 (RBP4) che è un'adipochina carrier del retinolo che lo trasporta dai depositi epatici ai tessuti periferici. La resistina è prodotta da macrofagi e adipociti e le concentrazioni plasmatiche aumentano nei soggetti obesi. L'RBP4 concorre a determinare l'insulino-resistenza e il diabete mellito di tipo 2 nei soggetti obesi perché favorisce la down-regulation di GLUT-4 e la gluconeogenesi. Alcuni farmaci come il rosiglitazone e la fenretinide normalizzano i livelli di RBP4 e potrebbero avere un ruolo nella terapia del diabete mellito di tipo 2 (Steppan et al., 2001; Muse et al., 2004; Yang et al., 2005). L'effetto dell'insulina è anche ostacolato dagli acidi grassi liberi che favoriscono la glicogenolisi e la gluconeogenesi e riducono l'utilizzazione di glucosio, fungendo da

substrato energetico alternativo. L'accumulo intracellulare di trigliceridi danneggia le cellule beta provocando un deficit secretivo, dovuto anche alla glucotossicità (Bresciani e Moncharmont, 2010; Cama e Muraro, 2010). Nei pazienti umani obesi è molto frequente riscontrare insulino-resistenza che si associa a stati prediabetici con iperglicemia a digiuno e/o ridotta tolleranza glucidica e a diabete mellito di tipo 2, che è la forma di diabete più frequente nell'uomo (Sperling et al., 2015).

Nel cane l'obesità è stata riportata come causa di insulino-resistenza che si risolve con la perdita di peso. Essa è dovuta all'aumento dell'espressione di TNF- α , di leptina e alla diminuzione di adiponectina, GLUT4, lipoproteina lipasi e PPAR. Tuttavia difficilmente si riscontra iperglicemia in corso di insulino-resistenza e anche i cani iperglicemici raramente sviluppano segni clinici di diabete mellito. Questo è dovuto all'ipersecrezione compensatoria di insulina che supera l'insulino-resistenza e mantiene l'euglicemia. Il mancato sviluppo d

i diabete mellito in cani iperglicemici e ipertrigliceridemici suggerisce che le cellule beta canine non sono sensibili alla lipo-glucotossicità o che sia necessaria la presenza di altri fattori patogenetici per determinarne il danneggiamento (Gayet et al., 2007; German et al., 2009; Verkest et al., 2012). Altri studi non hanno confermato l'associazione tra obesità e insulino-resistenza e non hanno confermato né l'esistenza di differenti concentrazioni di adiponectina tra cani obesi e normopeso, né l'esistenza di una correlazione tra i livelli di adiponectina e l'insulino-resistenza (Verkest et al., 2011; Castro et al., 2015). Ad oggi, quindi, non è stata pienamente dimostrata la correlazione tra diabete mellito e obesità nel cane così come nell'uomo e nel gatto.

3.2 Dislipidemia

Nelle persone obese è frequente il riscontro di dislipidemia, caratterizzata da un aumento delle concentrazioni di trigliceridi, NEFA, fosfolipidi e colesterolo LDL e da una riduzione dei livelli di colesterolo HDL, protettivo nei confronti dall'aterosclerosi. Le cause di dislipidemia sono da ricercare nell'eccessivo apporto dietetico di acidi grassi saturi, colesterolo e grassi trans ma, quando non causata direttamente dalla dieta, la dislipidemia è dovuta allo stato di insulino-resistenza. La riduzione della risposta all'insulina porta a un'ipertrigliceridemia per la riduzione del catabolismo di

chilomicroni, VLDL e remnants, dovuta alla ridotta attività della lipoprotein-lipasi endoteliale (LPL) e per la stimolazione della produzione di VLDL (very low density lipoproteins) a livello epatico, dovuta all'aumento della sintesi di Apo B100. La riduzione dei livelli di HDL è conseguente all'ipertrigliceridemia e all'aumento del trasferimento di esteri del colesterolo tra HDL e lipoproteine ricche in trigliceridi. Questi meccanismi comportano una riduzione del colesterolo HDL e un aumento di IDL (Lipoproteine a densità intermedia) e LDL (Lipoproteine a bassa densità), altamente aterogene. Alla base della dislipidemia vi è anche la riduzione di adiponectina per la perdita dello stimolo al catabolismo lipidico nei miociti (Sikaris, 2004). Nei soggetti obesi, altre cause di dislipidemia possono essere l'ipotiroidismo, la malattia renale cronica e fattori ereditari (Adiels et al., 2008).

Anche nei cani obesi è comune il riscontro di dislipidemia ma raramente si assiste a un superamento dei valori di riferimento. Sono stati descritti aumenti dei livelli plasmatici di colesterolo, trigliceridi, fosfolipidi e NEFA e alcune modificazioni a livello di lipoproteine date, in genere, da un aumento dei trigliceridi nelle VLDL, un aumento delle VLDL e una diminuzione del colesterolo HDL. I livelli plasmatici di colesterolo e trigliceridi tendono a ridursi con la perdita di peso. Tuttavia i diversi studi hanno portato a risultati non sempre concordi (Chikamune et al., 1995; Bailaiche et al., 2003; Diez et al., 2004; Jeusette et al., 2005; Pena et al. 2008, Tropf et al., 2017).

3.3 Sindrome metabolica

La sindrome metabolica colpisce quasi la metà degli adulti sopra i 50 anni nei paesi industrializzati. Secondo l'OMS, la sindrome metabolica consiste nell'aumentata resistenza all'insulina o nella diminuita tolleranza al glucosio in associazione a due o più dei disturbi seguenti: ipertensione arteriosa sistemica (BP \geq 140/90 mmHg), obesità (BMI >30 kg/ 2) oppure obesità addominale (rapporto circonferenza vita/fianchi o WHR "waist/hip ratio $>0,90$ nell'uomo e $>0,85$ nella donna), ipertrigliceridemia (\geq 150 mg/dL) e/o bassi livelli di colesterolo HDL (<35 mg/Dl nell'uomo e <39 mg/dL nella donna), microalbuminuria (velocità di escrezione dell'albumina \geq 20 μ g/minuto o

rapporto albumina/creatinina $\geq 30 \mu\text{g}/\text{mg}$). Ci sono anche altri disturbi descritti in corso di sindrome metabolica ma non contemplati dalla definizione dell'OMS come l'iperuricemia e i disordini coagulativi. Secondo l'IDF (*International Diabetes Federation*) per parlare di sindrome metabolica occorre la presenza di obesità centrale (rapporto vita/fianchi superiore a limiti specifici per sesso e etnia) e uno o più dei seguenti disturbi: ipertrigliceridemia ($\geq 150 \text{ mg}/\text{dL}$), bassi livelli di colesterolo HDL ($< 40 \text{ mg}/\text{dL}$ nell'uomo e $< 50 \text{ mg}/\text{dL}$ nella donna), ipertensione arteriosa sistemica (BP $\geq 130/85 \text{ mmHg}$), elevati valori di glicemia a digiuno ($\geq 100 \text{ mg}/\text{dL}$). Diverse organizzazioni hanno adottato i criteri dell'IDF ma per la diagnosi è sufficiente la presenza di almeno tre dei fattori di rischio, indipendentemente dalla presenza di obesità centrale (Lam e LeRoith, 2015).

Secondo alcuni autori, la disfunzione metabolica correlata all'obesità nel cane è data dalla presenza di un BSC $\geq 7/9$ e due o più dei seguenti disturbi: trigliceridi $> 200 \text{ mg}/\text{dL}$, colesterolo totale $> 300 \text{ mg}/\text{dL}$, glucosio $> 100 \text{ mg}/\text{dL}$, pressione arteriosa sistemica $> 160 \text{ mmHg}$ (Tvarijonaviciute et al., 2012b).

3.4 Pancreatite acuta

Nell'uomo alcuni dei fattori di rischio per la pancreatite acuta, i calcoli biliari e l'ipertrigliceridemia, sono correlati all'obesità e alla sindrome metabolica (Catanzaro et al., 2016).

Nel cane l'ipertrigliceridemia correlata all'obesità è considerata come fattore di rischio per la pancreatite acuta emorragica ma non è stato ancora individuato il meccanismo patogenetico. (Hess et al., 1999; German 2006).

3.5 Patologie epatobiliari

Nell'uomo l'obesità è causa di colelitiasi, per aumento della concentrazione di colesterolo nella bile e di steatosi epatica non alcolica, dovuta all'accumulo epatocellulare di trigliceridi, favorito dall'insulino-resistenza. La perossidazione lipidica può innescare un processo infiammatorio cronico che porta a fibrosi e a possibile evoluzione in cirrosi. La steatosi consiste nell'accumulo di lipidi, generalmente trigliceridi, in cellule dove normalmente non è possibile metterli in evidenza. (Lam e LeRoith, 2015).

Nel cane obeso la steatosi epatica è stata solo descritta ma non ci sono studi che ne abbiano dimostrato la correlazione con l'obesità (Joshua,1970).

3.6 Patologie gastrointestinali

Nell'uomo obeso la deposizione di tessuto adiposo intra-viscerale determina un aumento della pressione intra-addominale, che a sua volta favorisce l'ernia iatale da scivolamento. Questa è causa di reflusso gastro-esofageo, esofagite e possibilità di aumentato rischio di tumori esofagei. L'aumento della pressione intra-addominale può favorire anche ernie ombelicali, inguinali, crurali, laparocèle e diastasi dei muscoli retti (Cama e Cama, 2010).

Nei cani obesi è stata riportata una maggiore incidenza di costipazione e di malattia del cavo orale (Nelson et al., 2009).

3.7 Malattia cardiovascolare

Nell'uomo numerosi studi hanno dimostrato l'esistenza di una correlazione tra obesità e insufficienza cardiaca. Sono stati riportati cambiamenti strutturali e funzionali del miocardio come ipertrofia, alterazione subclinica della funzione sistolica e diastolica del ventricolo sinistro, ingrandimento atriale sinistro e infiltrazione adiposa del miocardio e dell'endocardio, causa di possibili aritmie.

Nel cane gli studi riguardanti gli effetti dell'obesità sull'apparato cardiovascolare sono limitati e riportano risultati discordanti.

3.7.1 Ipertensione arteriosa sistemica nell'uomo

Nei soggetti obesi vi è un aumentata richiesta di ossigeno, cui l'organismo risponde con l'attivazione del sistema renina-angiotensina e con un aumento del tono simpatico che portano a una espansione volemica e a un aumento della gittata cardiaca. Questi meccanismi sono alla base dell'ipertensione arteriosa sistemica, associata a infarti, ictus, scompenso cardiaco, retinopatie e

insufficienza renale (Abel, Litwin e Sweeney, 2008). L'attivazione del sistema simpatico e quella del sistema renina-angiotensina nei soggetti obesi sembrano essere regolate dalla leptina, in quanto stimola l'espressione degli mRNA per l'angiotensinogeno negli adipociti. In topi, con mutazione, in omozigosi, del gene *Ob*, la leptina stimola negli adipociti l'espressione degli mRNA per l'angiotensinogeno (Frederich et al.,1992). Negli adipociti umani sono espressi angiotensinogeno, renina, enzima convertente l'angiotensina e recettori AT1 e AT2 (Cassis et al. 2008). Inoltre, è stato dimostrato che l'angiotensina II oltre a indurre la vasocostrizione delle arteriole precapillari e a favorire la ritenzione idrosalina mediata dall'aldosterone, concorre anche all'insulino-resistenza agendo negativamente sui recettori dell'insulina, sulle proteine IRS e sul GLUT-4 (Olivares-Reyes J.A., Arellano-Plancarte A. e Castillo-Hernandez, 2009). L'angiotensina II stimola anche la produzione di adipochine pro-infiammatorie che pure concorrono all'insulino-resistenza attraverso lo stimolo alla produzione di TNF- α da parte dei macrofagi che è responsabile della downregulation del GLUT-4 e molte cellule infiammatorie sono in grado di sintetizzare l'enzima di conversione dell'angiotensina I (Yvan-Charvet e Quignard-Boulangé, 2011). L'insulino-resistenza e l'iperinsulinismo, inoltre, concorrono all'attivazione del sistema simpatico, e, indirettamente, al riassorbimento renale di sodio in simporto con il glucosio (Simonenko V.B., Goriutskii V.N., Dublin P.A.,2014). L'angiotensina II provoca anche ipertrofia degli adipociti, favorendo la produzione di angiotensinogeno (Fig.4) (Yvan-Charvet e Quignard-Boulangé, 2011).

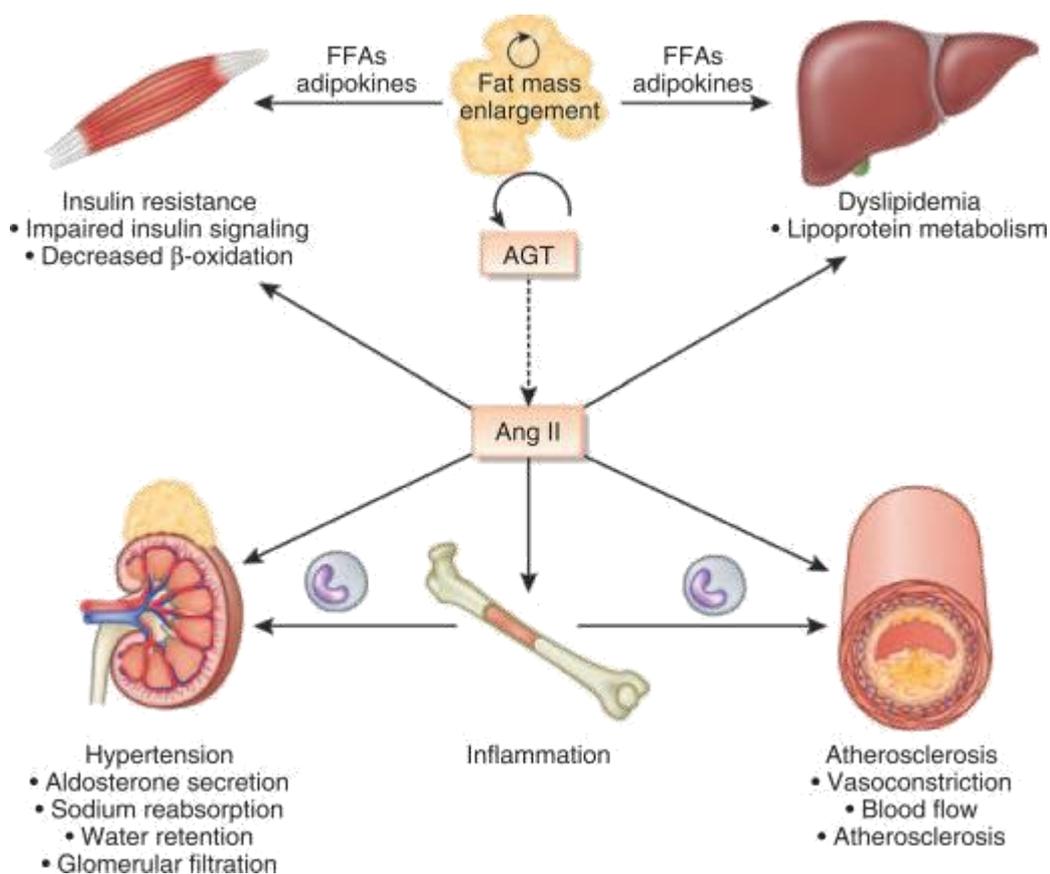


Fig.4 Influenza dell'angiotensina II nella patogenesi della sindrome metabolica. L'ipertrofia degli adipociti è associata con l'incremento della secrezione dell'angiotensinogeno e delle citochine infiammatorie. L'angiotensina II mostra effetti pleiotropici che potrebbero contribuire a determinare l'insulino-resistenza, l'infiammazione di basso grado, l'ipertensione e l'aterosclerosi. FFA: acidi grassi liberi (Da Yvan-Charvet e Quignard-Boulangé, 2011).

3.7.2 Rimodellamento e alterazioni funzionali del miocardio nell'uomo

Nelle persone obese frequente è il riscontro di cambiamenti strutturali e funzionali del cuore. Spesso troviamo aumento dello spessore della parete del ventricolo sinistro, con una condizione di ipertrofia concentrica, correlata all'aumento del postcarico, dovuto a sua volta all'ipertensione arteriosa sistemica. Altra modificazione strutturale è data dall'ingrandimento atriale sinistro, dovuto alle conseguenze emodinamiche dell'ipertrofia del ventricolo sinistro. L'ingrandimento ventricolare destro potrebbe essere correlato all'ipertensione polmonare cronica o all'apnea ostruttiva notturna. All'esame ecocardiografico la valutazione in M-mode della frazione di accorciamento

(FA = $\frac{\text{diametro telediastolico} - \text{diametro telesistolico}}{\text{diametro telediastolico}} * 100$) e della frazione di eiezione

$\frac{\text{volume telediastolico} - \text{volume telesistolico}}{\text{volume telediastolico}}$

(FE $\frac{\text{volume telediastolico} - \text{volume telesistolico}}{\text{volume telediastolico}} * 100$) del ventricolo sinistro risultano essere, in genere

nei limiti della norma ma, se valutate con metodi più sensibili è frequente mettere in evidenza alterazioni subcliniche della contrattilità. La valutazione del flusso transmitralico con il doppler pulsato mette spesso in evidenza la presenza di una disfunzione diastolica del ventricolo sinistro, indicata dalla presenza di una pattern da alterato rilassamento con la diminuzione del rapporto E/A, ovvero tra la velocità protodiastolica e telediastolica. Bisogna però ricordare che il pattern transmitralico è anche influenzato dal precarico ovvero dalla pressione dell'atrio sinistro. (Fig.5) (Abel et al., 2008; Otto,2013).

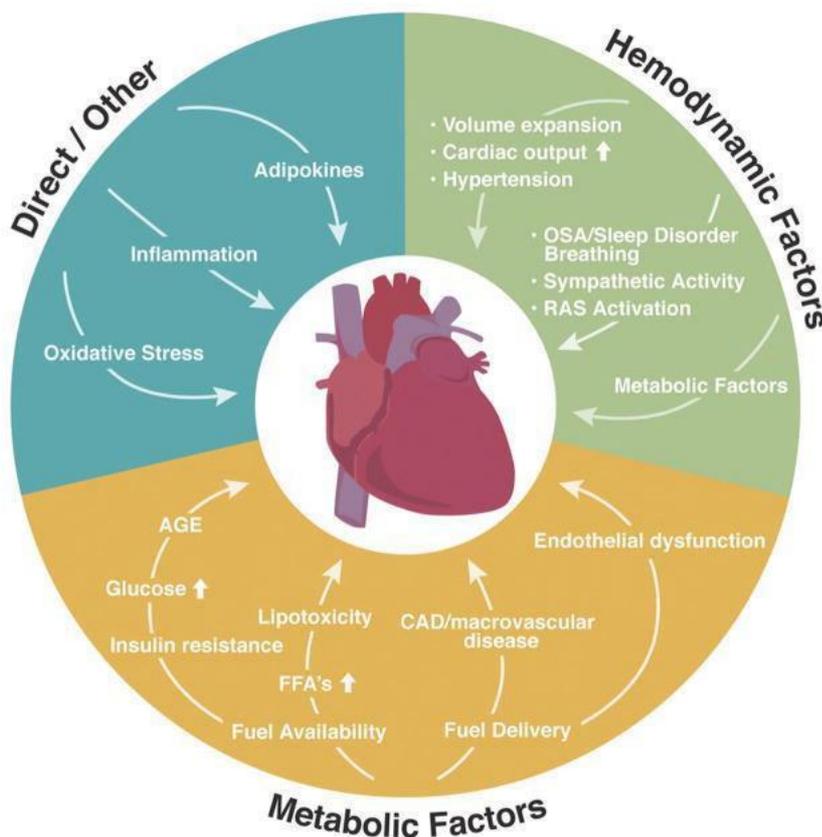


Fig.5 Riepilogo dei potenziali meccanismi attraverso i quali l'obesità può influenzare la struttura e la funzione del cuore (Da Abel et al., 2008)

3.7.3 Malattia ateromastica dell'uomo

L'obesità, attraverso lo stato infiammatorio cronico, la dislipidemia, la resistenza insulinica, lo stress ossidativo e l'ipertensione arteriosa sistemica ad essa correlati, rappresenta il principale fattore di rischio per la malattia aterosclerotica. L'ipertensione determina disfunzione endoteliale attraverso lo stiramento delle pareti vasali, con un aumento della deposizione di collagene e fibronectina, della permeabilità vasale e una riduzione del rilascio di ossido nitrico dipendente. L'angiotensina II favorisce la captazione di LDL e la produzione di radicali liberi da parte delle fibrocellule muscolari, che porta poi ad una chemiotassi monocitaria attraverso la espressione di alcune adesine. I monociti si trasformano in macrofagi che fagocitano le molecole di LDL e procedono a sintetizzare citochine pro-infiammatorie e metalloproteinasi della matrice. Il TNF- α provoca l'upregulation di molecole di adesione sulle plasmamembrane delle cellule endoteliali e miointimali e l'induzione dell'espressione dell'inibitore di tipo I dell'attivatore del plasminogeno (PAI-1) da parte dell'endotelio vasale. Questi fenomeni portano alla formazione della placca aterosclerotica che può provocare la formazione di trombi se va incontro a soluzioni di continuo che attivano la cascata emocoagulativa. (Libby, 2002; Keinbongard et al., 2010; Nakamura et al., 2013; Muthusamy, 2016).

In pazienti obesi con iperadrenocorticismo, un ruolo importante nella patogenesi della malattia aterosclerotica è svolto dai glucocorticoidi. Essi agiscono attraverso l'insulino-resistenza, la ritenzione di sodio, le alterazioni del metabolismo lipidico e la produzione di specie reattive dell'ossigeno a livello degli endoteli vasali (Ferraù e Korbonits, 2015).

3.7.4 Cardiopatia ischemica dell'uomo

Nel paziente obeso la cardiopatia ischemica è favorita dalla riduzione del flusso coronarico, per la coronaropatia aterosclerotica e per l'ipertrofia miocardica. L'adiponectina ha un'azione protettiva sul miocardio, il TNF- α ha un'azione protettiva data dal preconditionamento ischemico del miocardio ma ha anche un effetto proaterogeno che invece favorisce la cardiopatia ischemica (Keinbongard et al., 2010; Nakamura, 2013).

3.7.5 Stasi venosa nell'uomo

Nei pazienti obesi, l'eccesso di tessuto adiposo ostacola il deflusso venoso, favorendo poi la stasi venosa e lo sviluppo di vene varicose. La stasi venosa, insieme all'aumento dell'induzione dell'espressione dell'inibitore di tipo I dell'attivatore del plasminogeno (PAI-1) da parte dell'endotelio vasale, mediata dal TNF-alfa, favorisce la trombosi e l'embolia polmonare. La compressione causa anche stasi linfatica e linfedema (Cama e Cama, 2010).

3.7.6 Malattia cardiovascolare nel cane

Gli studi eseguiti nel cane sulla correlazione tra obesità e malattia cardiovascolare riportano risultati discordanti. Alcuni ne hanno dimostrato correlazione con la ritenzione sodica e l'ipertensione arteriosa sistemica. La prima è dovuta all'ipertono simpatico, all'iperinsulinemia a digiuno e all'iperaldosteronismo (Rocchini et al., 1989; Bodey e Mitchell, 1996; Truett et al. 1998). Altri studi, invece, non hanno individuato alcuna correlazione tra ipertensione arteriosa sistemica e obesità, suggerendo che, in realtà, l'ipertensione è dovuta a comorbidità quali cardiopatie, endocrinopatie e malattia renale cronica (Perez-Sanchez et al., 2015; Tropf et al., 2017).

Altri Autori hanno evidenziato modificazioni cardiostrostrutturali ed emodinamiche nei cani obesi, quali presenza di ipertrofia e disfunzione diastolica del ventricolo sinistro associate a ipertensione (Mehlman et al. 2013), un maggiore rapporto tra ampiezza del setto interventricolare in diastole e le dimensioni interne del ventricolo sinistro in diastole, un ridotto rapporto tra peak early e peak late della velocità di flusso ventricolare sinistra e peak early e peak late della velocità anulare mitralica e aumento delle percentuali di frazione di accorciamento e frazione di eiezione (Tropf et al., 2017).

L'obesità aumenta l'output cardiaco, il volume di plasma e fluidi interstiziali, l'attivazione neurormonale, la frequenza cardiaca, la pressione arteriosa, la disfunzione sistolica e diastolica ventricolare, l'intolleranza all'esercizio fisico e riduce l'escrezione urinaria di sodio e acqua (Atkins, 1999).

La perdita di peso, nei cani obesi, è associata alla risoluzione delle anomalie strutturali ed emodinamiche cardiache e alla riduzione della pressione arteriosa (Rocchini et al., 1987; Neto et al., 2010). Secondo altri studi, potrebbero essere secondari all'obesità disturbi come la trombosi della vena porta e l'ipossia del miocardio (Baba e Arakawa, 1984; van Winkle e Bruce, 1993). L'aterosclerosi nel cane è correlata all'obesità ma si verifica più raramente per le elevate

concentrazioni di HDL, che rimuovono il colesterolo dalle arterie e dai tessuti periferici per trasportarlo al fegato (Bauer, 2004). In letteratura è riportato il caso di un cane obeso affetto da ipotiroidismo congenito primario in cui sono state evidenziate, all'esame autoptico, lesioni aterosclerotiche a livello di SNC. Sono poi riportate lesioni ateromasiche dell'aorta e delle grosse arterie in cani con anamnesi di dislipidemia ed è segnalato un cane con anamnesi di vasculite e ipercolesterolemia venuto a morte per cardiopatia ischemica secondaria all'aterosclerosi (Kagawa et al., 1998; Hess, Kass e van Winkle, 2003; Blois et al., 2008; Boynosky e Stokking, 2014).

3.8 Malattie respiratorie

Nell'uomo l'apnea ostruttiva del sonno e l'asma bronchiale sono correlate all'obesità. L'accumulo di grasso nelle aree sotto-diaframmatiche, attorno alla gabbia toracica e la compressione delle vie aeree superiori, peggiora la capacità ventilatoria, portando nei casi più gravi a insufficienza respiratoria di tipo restrittivo. Questi effetti meccanici provocano durante il sonno il russamento e l'apnea notturna, associati a picchi di ipertensione arteriosa. L'asma è dovuta anche allo stato infiammatorio cronico causato dalle adipochine. La riduzione dei livelli di adiponectina sembra favorire la patologia per la perdita del suo effetto protettivo anti-infiammatorio, conseguente alla scomparsa dell'effetto inibitorio sulla produzione del TNF- α , che ha un'azione stimolante l'infiammazione e la contrattilità bronchiolare (Thomas, 2001; Sukkar et al., 2001). L'aumento dei livelli di leptina invece promuove la chemiotassi dei neutrofili e la generazione di specie reattive dell'ossigeno, l'attivazione delle cellule NK, la fagocitosi e il rilascio di citochine da parte dei macrofagi. Recettori per la leptina sono presenti anche a livello di epitelio bronchiale, di fibrocellule muscolari lisce delle vie aeree e di mastociti polmonari. I pazienti obesi possono avere episodi acuti di ipossiemia e ipercapnia fino all'acidosi respiratoria. Queste alterazioni provocano il torpore e la perdita di coscienza transitoria che caratterizzano la sindrome di Pickwick. L'ipossiemia cronica provoca policitemia secondaria e ipertensione (Chung e Barnes, 1999; Kopelman, 2000; Shore, 2008; Cama e Cama, 2010; Sood e Shore, 2013). Anche nel cane obeso si verificano alterazioni della meccanica respiratoria. I depositi adiposi addominali e toracici, infatti, portano a una riduzione della compliance della parete toracica, con conseguente difficoltà nell'espansione polmonare nell'atto inspiratorio e ipoventilazione delle regioni polmonari periferiche (Bach et al., 2007). Si può verificare anche aumento della reattività bronchiale, con possibile broncospasmo, alla base dell'asma e della broncopneumopatia cronica ostruttiva nell'uomo (Manens

et al., 2012). Inoltre l'aumento del grasso mediastinico può aggravare il collasso tracheale, in cani con membrana tracheale dorsale ridondante. L'obesità esacerba diverse malattie dell'apparato respiratorio come la paralisi laringea, la sindrome brachicefalica e l'apnea ostruttiva da sonno del Bulldog inglese (Nelson e Sellon, 2005). I cani obesi sono maggiormente predisposti al colpo di calore, per le difficoltà nella termodispersione (Flournoy et al., 2003).

3.9 Malattie dermatologiche

A causa dell'immunodepressione concomitante, i cani obesi sono maggiormente predisposti a sviluppare malattie dermatologiche non allergiche come seborrea e piodermite. Ad esempio, uno studio eseguito su cani affetti da dermatite da *Malassezia Pachidermatis* ha identificato l'obesità come significativo fattore di rischio (Pak-Son et al., 1999). L'obesità può aggravare la dermatite intertriginosa e animali gravemente obesi possono sviluppare ulcere da decubito (Williams e Newberne, 1971; Edney e Smith 1986, Remillard, 2005; German 2006).

3.10 Malattie urinarie

Nell'uomo l'obesità predispone anche a patologie dell'apparato urinario, quali l'incontinenza urinaria, le infezioni delle vie urinarie, le glomerulopatie e la nefropatia conseguente al reflusso di urina dalla vescica al bacinetto renale. La glomerulopatia può essere caratterizzata da proteinuria, microalbuminuria, glomerulomegalia, proliferazione mesangiale, glomerulosclerosi segmentale o focale. Al suo determinismo concorrono lo stato infiammatorio cronico, lo stress ossidativo, l'ipertensione arteriosa sistemica e la vasodilatazione delle arteriole renali, dovuta a un feedback tubulo-glomerulare, mediato dalla macula densa e conseguente all'aumentata natrioritenzione a livello di tubulo convoluto prossimale per effetto dell'insulino-resistenza. L'ipertono simpatico e l'attivazione del RAAS possono contribuire alla progressione del danno renale, predisponendo all'insufficienza renale. I soggetti obesi nefropatici hanno un maggior rischio di evolvere verso la sindrome uremica, se non adeguatamente trattati (Cagnac et al. 2000; Wolf, 2003; Cama e Cama, 2010).

Nel cane è stato dimostrato, in soggetti alimentati con una dieta iperlipidica, che l'insorgenza dell'obesità era correlata a ipertensione, iperinsulinemia, attivazione del sistema renina-angiotensina e a modificazioni istologiche del parenchima renale come l'espansione della capsula di Bowman, l'aumento della matrice mesangiale, l'ispessimento delle membrane basali glomerulari e tubulari (Henegar et al. 2001). E' stata anche dimostrata una maggior predisposizione all'incontinenza urinaria da incompetenza dello sfintere uretrale nelle cagne, probabilmente conseguente alla dislocazione caudale della vescica, per l'accumulo di grasso retroperitoneale. Si è visto inoltre come, in seguito al dimagrimento, si evidenzia il ripristino della continenza. Altro fattore di rischio fortemente associato all'incontinenza urinaria è la sterilizzazione, con riduzione del tono del muscolo uretrale, dovuto a sua volta livelli inferiori di estrogeni. L'incontinenza predispone a infezioni delle vie urinarie e a ustioni da urina (Gregory, 1994; Holt 2012; O'Neill et al., 2017).

3.11 Malattie riproduttive

Nella specie umana l'obesità è uno dei fattori predisponenti l'ipogonadismo e l'infertilità, sia nel maschio che nella femmina.

Nell'uomo l'obesità porta a una riduzione degli spermatozoi eiaculati di circa il 20%, a un aumento della teratospermia e dell'astenospermia. Tali alterazioni sono dovute all'aumento della temperatura basale, tipica dei soggetti obesi, che impedisce una corretta spermiogenesi e a modificazioni nella secrezione di gonadotropine (Attaman et al., 2012).

Nel topo femmina con delezione del gene codificante per il recettore dell'insulina, è stato dimostrato che l'obesità è associata a infertilità, aumento dei livelli circolanti di androgeni e che i

livelli di fosforilazione proteica a livello ovarico sono più elevati, rispetto ai soggetti normopeso. Queste modificazioni sono messe in relazione con lo stato di insulino-resistenza. Uno studio realizzato ex vivo su modello colturale ovarico, ha dimostrato che l'insulina agisce indipendentemente o in combinazione con la gonadotropina corionica umana, per stimolare la produzione di androstenedione. Questo studio dimostra la correlazione dell'iperinsulinismo, che si verifica in corso di obesità, con l'iperandrogenismo ovarico e l'infertilità (Wu et al., 2014). Circa la metà delle donne obese sono affette da sindrome dell'ovaio policistico e amenorrea e le gestanti hanno un rischio maggiore di parto pretermine, gestosi, morte fetale, macrosomia fetale e distocia. L'obesità, inoltre, aumenta anche il rischio di tumori mammari, endometriali, ovarici, testicolari e prostatici. Alcune di queste alterazioni sono anche conseguenti all'aumento dell'espressione delle aromatasi che provoca modifiche del metabolismo degli ormoni sessuali (Cama e Cama; 2010; Crujeiras e Casanueva, 2015; Lamminpaa et al., 2016).

Nella cagna obesa sono frequenti anaestri prolungati, dovuti ad alterazioni della produzione di gonadotropine ipofisarie, calori silenti e modificazioni della componente lipidica della membrana ovocitaria, con alterazioni di legame con lo spermatozoo. Inoltre è presente un aumentato rischio di distocia, dovuto all'infiltrazione adiposa delle fibre miometriali e dei legamenti larghi, con inerzia uterina primaria. L'infiltrazione adiposa delle fibre miometriali provoca una riduzione della contrattilità e un'incompleta brachistasi. La brachistasi è quel fenomeno che consente la riduzione del volume uterino durante le doglie ed è caratterizzato dal progressivo accorciamento delle fibre miometriali che, quando tornano a riposo dopo una contrazione, non tornano alla lunghezza iniziale. L'infiltrazione adiposa dei legamenti larghi ne aumenta la lassità e può portare a torsioni uterine, con una conseguente riduzione del canale del parto. La cagna obesa ha anche una maggiore predisposizione allo sviluppo di tumori mammari (Glickman et al., 1995; England e von Heimendahl, 2011).

3.12 Malattie ortopediche

L'obesità canina predispone a diverse patologie ortopediche, sia traumatiche che degenerative. (Edney e Smith, 1986). L'incremento ponderale predispone a fratture del condilo omerale e a rottura

bilaterale del legamento crociato craniale. Nelle razze di grande taglia, l'eccesso di peso, nel periodo giovanile, predispone a patologie dello sviluppo accrescitivo, come la displasia d'anca. La condizione algogena presente in cani con patologie muscoloscheletriche porta, inoltre, a una riduzione del movimento che può innescare un circolo vizioso caratterizzato dal peggioramento dell'obesità e della patologia ortopedica (Marshall et al., 2009; Grierson et al., 2011).

Nell'uomo è stato dimostrato che l'obesità è responsabile dello sviluppo o della progressione dell'osteoartrite, sia attraverso fattori meccanici che biochimico-umorali. E' verosimile che questo sia valido anche per il cane, in cui il dimagrimento può determinare un importante miglioramento del grado di zoppia e della severità radiografica in soggetti con osteoartrite dell'anca, del gomito e della spalla (Impellizzeri et al., 2000; Runge et al., 2008; Huck et al., 2009). Per quanto riguarda gli effetti meccanici, non è chiaro se l'obesità causi osteoartrite in articolazioni già alterate da incongruità o instabilità primarie o se determini una ridistribuzione delle forze di carico sulle superfici articolari. Il riscontro in persone obese di fenomeni osteoartritici in articolazioni non sottoposte al carico del peso corporeo, suggerisce la presenza di un ruolo fondamentale svolto dai fattori biochimico-umorali. E' stato dimostrato, in uno studio su persone con osteoartrite del ginocchio o dell'anca, la presenza di leptina nel fluido sinoviale in concentrazione significativamente più elevata rispetto a quella sierica. L'espressione di trascritti codificanti per i recettori della leptina, nei condrociti umani, era aumentata nelle colture allestite da cartilagini infiammate, con valori nettamente più alti nei soggetti obesi. La leptina ha inoltre un effetto inibitorio a lungo termine sulla crescita di colture di condrociti e induce in maniera dose-dipendente la produzione di interleuchina

1 (IL-1) e di metalloproteinasi della matrice-13 e -9 che aumentano il catabolismo della matrice cartilaginea. Il TNF-alfa promuove la secrezione di prostaglandine, di ossido nitrico e di proteasi neutre da parte dei fibroblasti sinoviali e dei condrociti provocando la distruzione della matrice cartilaginea (Dumond et al., 2003; Weisbrode, 2006; Simpopolou et al., 2007).

Nell'uomo è stata individuata un'associazione tra diabete mellito e osteoartrite, causata probabilmente dalle reazioni di glicazione delle proteine. Esse porterebbero alla formazione di prodotti finali di glicazione avanzata, che, accumulandosi in essa, comprometterebbero le proprietà meccaniche della cartilagine. Tali prodotti portano, inoltre, all'attivazione di pathway infiammatori, alla produzione di metalloproteinasi della matrice e alla riduzione della sintesi di proteoglicani (DeGroot et al., 2004). Le lesioni aterosclerotiche possono compromettere la vascolarizzazione dell'osso subcondrale e l'ischemia può contribuire alla progressione dell'osteoartrite nell'uomo

(Conaghan et al., 2005). L'obesità si associa anche a un aumentato rischio di gotta dovuta all'iperuricemia che è correlata all'insulino-resistenza (Cama e Cama, 2010).

3.13 Malattie neurologiche

Nell'uomo l'obesità è correlata all'ictus, favorito anche dall'aterosclerosi, e alle sindromi da compressione dei nervi e del midollo spinale. Tra quelle da compressione nervosa, si ricordano la sindrome del tunnel carpale e la meralgia parestetica. La prima è una neuropatia dolorosa, dovuta alla compressione del nervo mediano a livello del polso e associata a infiammazione della borsa tendinea dei flessori. La seconda interessa il nervo cutaneo femorale laterale, ed è caratterizzata da dolore, parestesia e ipoestesia. L'obesità favorisce anche le ernie dei dischi intervertebrali sia nell'uomo che nel cane (Cama e Cama, 2010; Packer et al., 2013).

3.14 Malattie neoplastiche

Nell'uomo l'obesità è correlata a un maggior rischio di neoplasie. Quelle più frequenti nei soggetti obesi, sono i carcinomi del colon-retto, della mammella, dell'endometrio, del rene, dell'esofago, del pancreas e della colecisti. Esse sono favorite dallo stress ossidativo, dalla compressione meccanica e dall'iperpressione delle aromatasi che provocano l'aumento degli estrogeni, tumori uterini e della mammari. L'insulino-resistenza e l'iperinsulinismo compensatorio possono favorire le neoplasie, anche la leptina può favorirle per il suo effetto proliferativo e antiapoptotico. L'adiponectina potrebbe avere un effetto protettivo perché riduce la produzione del nuclear factor kappa-B. Il TNF- α e l'Il-6 pure potrebbero essere coinvolti (Cama e Cama, 2010; Liu et al., 2013; Andò et al., 2014).

I cani obesi hanno una maggiore probabilità di sviluppare alcune neoplasie come il carcinoma a cellule transizionali della vescica e quello mammario (Chun e Garret, 2005). Alla base di questa predisposizione vi è il danno cellulare, causato dall'aumento dello stress ossidativo nei cani obesi.

Esso riguarda tutte le componenti cellulari e causa alterazione nell'espressione genica e nella trasduzione dei segnali cellulari, genotossicità e mutazioni, morte cellulare o trasformazione neoplastica. Lo stress ossidativo è conseguente alla ossidazione degli acidi grassi nei perossisomi, che porta alla produzione di perossido di idrogeno, e alla produzione dei ROS a livello della catena di trasporto degli elettroni nei mitocondri. Nei cani obesi queste molecole aumentano in maniera abnorme e superano le quantità detossificabili dalla catalasi. Nel cane obeso tale aumento è conseguente all'aumento delle β -ossidazioni perossisomiali e della respirazione mitocondriale dovuto al superconsumo di ossigeno, in particolare legato al maggiore lavoro meccanico del cuore e al più elevato metabolismo dei cardiomiociti (Urakawa et al. 2003, Cline et al.,2009; Fernandez-Sanchez,2011). Lo stress ossidativo è anche dovuto alle adipochine pro-infiammatorie che aumentano la produzione dei ROS e dell'ossido nitrico a livello di monociti e macrofagi (Fernandez-Sanchez, 2011). Negli adipociti la produzione dei ROS è conseguente all'attivazione della NADPH ossidasi (Furukawa et al. 2004).

3.15 Rischio anestesilogico

L'obesità è un fattore di rischio anestesilogico sia perché comporta alterazioni farmacocinetiche, sia perché è causa di alterazioni della meccanica respiratoria e della dinamica cardiocircolatoria.

Le modificazioni della farmacocinetica riguardano la distribuzione e sono correlate al grado di lipofilia degli anestetici. Occorre però considerare che il tessuto adiposo è relativamente meno vascolarizzato di altri tessuti e quindi, indipendentemente dalla lipofilia dell'anestetico, la deposizione e la ridistribuzione al sangue della molecola non sono di entità tale da modificare significativamente i tempi di risveglio. Nei cani obesi, inoltre, è più frequente il rischio di sovradosaggio (Clutton, 1988).

La malattia cardiovascolare è un importante fattore di rischio anestesilogico, in quanto predispone a ipoperfusione tissutale, acidosi metabolica e shock riduzione della riserva cardiaca, conseguente all'abnorme presenza di tessuto adiposo. Nei pazienti obesi, per mantenere una gittata cardiaca adeguata, aumenta il lavoro cardiaco e il consumo miocardico di ossigeno. Ciò predispone i pazienti a disturbi del ritmo e a insufficienza cardiaca acuta (Clutton, 1988).

Un altro fattore di rischio anestesiológico è dato dall'alterazione della meccanica respiratoria, con riduzione della capacità funzionale residua che, unitamente all'aumento del consumo periferico di ossigeno, porta il paziente a una rapida desaturazione. Inoltre, l'obesità esacerba la formazione di atelettasia polmonare durante l'anestesia, specialmente attorno al diaframma (Clutton, 1988; Adams e Murphy, 2000; Bach et al. 2007; Mosing et al., 2013).

Sono più comuni le complicanze post-operatorie (Fisher et al., 1975).

3.16 Rischio chirurgico

Nei soggetti obesi è maggiore il rischio di sanguinamento durante un intervento chirurgico e di complicazioni nella guarigione delle ferite (Nelson et al., 2009).

4. Tessuto adiposo e adipochine

Il tessuto adiposo dei Mammiferi è diviso in tessuto adiposo bruno o multiloculare e tessuto adiposo bianco o uniloculare.

Il primo è costituito da adipociti multiloculari, di forma poligonale, dotati di citoplasma infarcito da numerose microgocce lipidiche, nucleo centrale e numerosi mitocondri. Questi contengono grandi quantità di termogenina o proteina disaccoppiante (UCP1), a livello della membrana mitocondriale interna, la cui espressione è influenzata dalla stimolazione dei recettori adrenergici, dai livelli di triiodotironina e da quelli di leptina. Essa è una proteina transmembranaria che funziona come canale protonico consentendo il ritorno dei protoni dallo spazio intermembrana alla matrice mitocondriale, evitando il passaggio attraverso il complesso dell'ATP-sintasi. In questo modo le reazioni ossidative sono disaccoppiate dalla fosforilazione e l'energia di legame non è convertita in ATP ma dissipata sotto forma di calore. Calore che poi viene ceduto al sangue circolante e contribuisce al rialzo della temperatura corporea. Il tessuto adiposo bruno è molto abbondante in animali ibernanti, nel feto e nel neonato e si localizza prevalentemente a livello perirenale, cervicale, interscapolare e ascellare. Una ridotta massa di tessuto adiposo bruno potrebbe contribuire all'obesità perché si riduce il dispendio termogenico (Nelson e Cox, 2005; Celi, 2009).

Il tessuto adiposo bianco, invece, è costituito prevalentemente da adipociti uniloculari, più grandi di quelli bruni, dotati di nucleo eccentrico e un'unica goccia lipidica, la quale occupa quasi la totalità del volume cellulare ed è rivestita da perilipine, proteine che modulano la lipomobilizzazione. Questa è sottoposta a un controllo ormonale, difatti è inibita dall'insulina, mentre adrenalina, noradrenalina, ACTH, ormoni tiroidei e glucagone la favoriscono. Ciò avviene tramite attivazione dell'adenilato ciclasi, con aumento dell'AMP ciclico e fosforilazione della perilipina da parte della PKA. La perilipina fosforilata trasferisce la lipasi ormone-sensibile dal citosol alla superficie della goccia lipidica, ove provoca l'idrolisi dei trigliceridi. Gli acidi grassi diffondono nel sangue legandosi all'albumina, che li trasporta ai tessuti per soddisfarne le richieste metaboliche (Nelson e Cox, 2005). Altri elementi cellulari presenti nel tessuto adiposo bianco sono rappresentati da macrofagi, cellule endoteliali, periciti, fibroblasti, cellule nervose e cellule staminali. Il tessuto adiposo bianco aumenta tramite ipertrofia e iperplasia degli adipociti nei soggetti obesi (Bjorntorp, 1991). Tuttavia, in corso di obesità, l'accumulo di lipidi intracellulari si verifica anche a livello di altri distretti, quali fegato, muscoli, cuore, ipotalamo, cellule-beta pancreatiche e ciò diventa causa di resistenza ormonale e lipotossicità. In passato il tessuto adiposo bianco era considerato esclusivamente come sede di deposito energetico, le cui uniche funzioni erano quella di isolamento termico, di protezione meccanica e di sostegno degli organi interni. Successivamente, diversi studi ipotizzarono che il mantenimento del peso corporeo fosse dato dal controllo del bilancio energetico da parte di un meccanismo a feedback, attraverso sostanze che agiscono sull'ipotalamo, modulando l'assunzione di cibo e il dispendio energetico, in relazione allo stato di nutrizione (Heterington e Ranson, 1942; Kennedy, 1953). Negli ultimi anni è stato ampiamente dimostrato che il tessuto adiposo bianco è sede di produzione di più di 100 molecole, denominate adipochine o adipocitochine, le quali influenzano l'omeostasi dell'intero organismo attraverso le loro azioni endocrine, paracrine ed autocrine. Esse sono secrete non solo dagli adipociti ma anche da altre cellule presenti nel tessuto adiposo, come i macrofagi. Le adipochine maggiormente studiate anche nel cane sono la leptina e l'adiponectina, altre adipochine sono il TNF- α , l'Il-6, il RBP4, la resistina, l'angiotensinogeno, l'inibitore di tipo I dell'attivatore del plasminogeno, l'aptoglobina, l'NGF, la visfatina, l'apelinina e la monocyte chemoattractant protein-1. Il tessuto adiposo bianco presenta quindi un'importante funzione endocrina, preposta non solo alla regolazione dell'appetito e del metabolismo ma anche a quella della pressione arteriosa, della coagulazione, della formazione e differenziazione delle cellule del sangue, dei meccanismi di difesa immunitaria, dei processi infiammatori e di rimodellamento tissutale e della fertilità (Eisele et al., 2005; Wang et al., 2008; Ryan et al., 2010).

4.1 Leptina

La leptina è un ormone proteico (167 amminoacidi) prodotto dagli adipociti bianchi e in misura minore dalla placenta, dalle cellule principali o peptiche delle ghiandole ossintiche dell'epitelio gastrico, dalla membrana sinoviale, dalla mammella, dal fegato, dal muscolo scheletrico e dal cervello (Masukazy et al. 1997; Bado et al. 1998; Dumond et al., 2003; Lin e Li, 2005). La sua sintesi è codificata dal gene *LEP*, indicato nel topo come *OB*, la cui mutazione in omozigosi nel topo (genotipo *ob/ob*) è associata a un abnorme aumento del peso corporeo, per accumulo di tessuto adiposo, e che può essere tre volte superiore a quello di un topo normale. E' associata anche a polifagia, ipotermia, alterazioni della crescita, immunodepressione, data da atrofia timica e deficit della risposta immune cellulo-mediata, e sterilità. Questi topi hanno elevati livelli di glucocorticoidi, sono insulino-resistenti e presentano alterazioni metaboliche tipiche dei soggetti diabetici. Queste alterazioni si risolvono con la somministrazione esogena di leptina (Friedman e Halaas, 1998).

La leptina è rilasciata nel sangue dove si associa alle proteine plasmatiche ed esplica la sua azione legandosi al proprio recettore, espresso da diverse cellule, in particolare neuroni ipotalamici del nucleo arcuato ma anche, in minor misura da linfociti T, cellule endoteliali e cellule- β pancreatiche. Il recettore per la leptina è codificato dal gene *LEPR*, chiamato *DB* nel topo. I topi con genotipo *db/db* sono obesi e diabetici. La trasduzione del segnale è data da un meccanismo noto come JAK/STAT. Quando lega il suo ligando, il recettore della leptina dimerizza e i residui di tirosina di ciascun monomero vengono fosforilati da una Janus chinasi (JAK). I residui di fosfotirosina diventano siti di legame per le proteine STAT che, una volta fosforilate sempre dalla JAK, si spostano nel nucleo e si legano a determinate sequenze di DNA, stimolando l'espressione di geni bersaglio. Quando il recettore è difettoso, la funzione della leptina viene perduta (Friedman e Halaas, 1998; Nelson e Cox, 2005).

I livelli ematici di leptina sono in rapporto di diretta proporzionalità con il numero, le dimensioni e il contenuto di trigliceridi degli adipociti e sono regolati da un meccanismo a feedback negativo,

attraverso gli effetti anoressizzanti e metabolici, prodotti dalla molecola. Essi aumentano nei soggetti obesi e si riducono dopo la perdita di peso. L'incremento dei livelli di leptina può essere anche riferibile al tentativo dell'organismo di superare la leptino-resistenza, causata da difetti dei recettori. In caso di topi *ob/ob*, invece, vi è una condizione di obesità associata a ipoleptinemia. L'espressione della leptina è modulata da diverse molecole quali il TNF- α , l'insulina, i glucocorticoidi, le catecolamine e l'interleuchina 1. (Frederich et al., 1995; Wabitsch et al., 1996; Friedman e Halaas, 1998).

Nell'uomo gli estrogeni aumentano l'espressione della leptina, mentre gli androgeni la diminuiscono, da ciò derivano, di conseguenza, differenze legate a sesso e ad età. Le concentrazioni sieriche di leptina mostrano un ritmo circadiano con un picco notturno dato da un aumento del 30-100% della concentrazione notturna, rispetto a quella diurna. I pazienti con deprivazione di sonno hanno livelli di leptina più bassi e presentano un rischio maggiore di obesità (Sinha et al., 1996; Behre et al., 1997; Blum et al., 1997; Shimizu, 1997; Wabitsch et al., 1997).

Nel cane, i livelli di leptina sono correlati al BCS e alla massa grassa, indipendentemente da età, sesso e razza. La leptina, dunque, diventa un marker affidabile di adiposità (Sagawa et al., 2002; Ishioka et al., 2007; German et al., 2009, Wakshlag et al., 2011; Bastien et al., 2015). L'insulina aumenta l'espressione della leptina e si osservano variazioni circadiane dei livelli sierici. Quando viene fornito un unico pasto giornaliero, i livelli di leptina sono minimi prima del pasto e massimi a distanza di 5-8 ore. Tali variazioni non sono apprezzabili quando l'animale è alimentato due o più volte al giorno. In condizioni di digiuno, i livelli di leptina diminuiscono e tornano a valori normali nelle 12 ore successive l'assunzione del pasto, la somministrazione di insulina esogena innalza i livelli sierici di leptina (Ishioka et al., 2005). Inoltre, la leptina concorre a determinare l'insulino-resistenza attraverso lo stimolo alla produzione di TNF- α da parte dei macrofagi, responsabile della downregulation del GLUT-4. E' stata riportata anche un'azione insulino-sensibilizzante, dovuta alla presenza di secondi messaggeri comuni nella trasduzione del segnale della leptina e dell'insulina (Nelson e Cox, 2005; Maury e Brichard, 2010). La somministrazione di desametasone a dosi terapeutiche aumenta i livelli sierici di leptina (Ishioka et al., 2002).

La leptina è coinvolta nell'omeostasi energetica dell'organismo. I suoi effetti centrali derivano dalla sollecitazione dei recettori ipotalamici e del sistema nervoso simpatico. La stimolazione di

quest'ultimo porta all'aumento dei livelli glicemici e della lipolisi, all'inibizione della lipogenesi, all'aumento della pressione sanguigna, della frequenza cardiaca, del consumo di ossigeno e della termogenesi, mediante il disaccoppiamento del trasporto degli elettroni, dalla sintesi di ATP nei mitocondri del tessuto adiposo. Esso è reso possibile dall'incremento della sintesi di termogenina da parte degli adipociti, dovuto all'aumento del rilascio di noradrenalina, conseguente all'azione della stessa leptina a livello del nucleo arcuato (Friedman e Halaas, 1998). La stimolazione della termogenesi adattativa è mediata anche dall'attivazione di una popolazione di neuroni peptidergici, localizzata nell'ipotalamo dorsomediale (Dood et al., 2014). La termogenesi consente la produzione di calore, favorendo il catabolismo lipidico e limitando l'aumento dei depositi adiposi. La stimolazione di specifici neuroni dei nuclei arcuato, ventromediale e dorsomediale dell'ipotalamo, porta alla riduzione dell'assunzione di cibo. A livello di nucleo arcuato, l'assunzione di cibo è controllata da due tipi di neuroni: gli oressigeni e quelli anoressigeni. I neuroni oressigeni producono il neuropeptide Y (NPY), l'acido gamma-amminobutirrico (GABA) e l'agouti-related protein (AGRP). Questi stimolano anche quelli oressigeni dei nuclei ipotalamici laterale e perifornicale, mentre inibiscono quelli anoressigeni del nucleo paraventricolare. I neuroni anoressigeni producono pro-opiomelanocortina (POMC), melanocortina, ormone stimolante i melanociti α (α -MSH) e il cocaine-amphetamine-regulated transcript (CART). Essi stimolano a loro volta i neuroni anoressigeni del nucleo paraventricolare, inibiscono quelli oressigeni dei nuclei ipotalamici laterale e perifornicale e sono inibiti dai neuroni oressigeni del nucleo arcuato stesso. La leptina agisce stimolando il rilascio di α -MSH da parte dei neuroni anoressigeni e inibisce quello della proteina Agouti e del neuropeptide Y da parte dei neuroni oressigeni. Attraverso questo meccanismo, la leptina ha un effetto anoressizzante, poiché rimuove l'azione inibitoria sul centro della sazietà dell'ipotalamo ventromediale del neuropeptide Y e provoca la stimolazione dei recettori 4 della melanocortina (MCR-4), espressi a livello dei nuclei paraventricolari e nell'amigdala (Friedman e Halaas, 1998; Magni et al., 2003; Balthasar et al., 2005). Il neuropeptide Y è un potente oressizzante e presiede alla regolazione di diversi ormoni ipofisari. Esso è infatti capace di stimolare la somatostatina inibendo il GH, di ridurre la secrezione di gonadotropine e di stimolare l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene. I livelli di NPY aumentano durante il digiuno e nei topi *ob/ob* e *db/db*. (Pierroz et al., 1999). L'agouti related protein è oressizzante e antagonista del recettore 4 della melanocortina (MCR-4), possiede un'emivita più lunga del neuropeptide Y. La pro-opiomelanocortina ha azione anoressizzante ed è precursore degli ormoni stimolanti i melanociti di tipo alfa, beta e gamma, dell'ACTH e della beta-endorfina. L'alfa-MSH esercita la sua azione anoressizzante stimolando il recettore melanocortinico 4 (MC4R) espresso dai neuroni anoressigeni del nucleo paraventricolare.

Anche il CART è anoressizzante. Al controllo del peso corporeo concorre anche l'azione della leptina sui neuroni che esprimono il fattore steroidogenico 1. Essa stimola inoltre l'azione di altri agenti anoressizzanti e antagonizza quelli oressizzanti. Infatti, ad esempio, entra in sinergismo con la colecistochinina (Matson et al., 1997). In questo modo si verifica una condizione di bilancio energetico negativo che favorisce la perdita di peso. Viceversa, durante periodi di digiuno si ha una riduzione dei livelli di leptina dovuta alla riduzione dei depositi adiposi, che porta a effetti opposti a quelli descritti prima, volti alla conservazione della massa corporea (Friedman e Halaas, 1998).

Ovviamente i fattori che presiedono al mantenimento della massa corporea e alla regolazione dell'appetito sono molteplici. La distensione del tubo gastroenterico e la stimolazione di chemocettori epatici e portalì, provoca l'invio di impulsi afferenti al nucleo del tratto solitario, che riduce l'appetito a breve termine dopo il pasto. Anche stimoli olfattivi, uditivi, gustativi e visivi possono modulare l'assunzione di cibo. Il freddo e il lavoro muscolare intenso stimolano l'appetito, le alte temperature ambientali lo inibiscono. Importante fattore oressizzante è l'ormone concentrante la melanina (MHC), che agisce a livello del nucleo arcuato, stimolando i neuroni oressigeni e inibendo quelli anoressigeni. Altri neuromediatrici sono il glutammato, la galanina e il GABA, che hanno effetti oressizzanti. L'aumento dei livelli ematici di glucosio, lipidi e amminoacidi inibisce l'assunzione di cibo, la diminuzione la stimola. Il glucagone, la calcitonina, il TRH, il CRH, la nesfatina-1, la serotonina e il fattore neurotrofico cerebrale inibiscono l'assunzione di cibo. La triiodotironina e gli oppioidi endogeni stimolano l'appetito. L'insulina, come la leptina, inibisce il rilascio di NRY e AGRP e favorisce la produzione di pro-opiomelanocortina e delle molecole derivate da parte dei neuroni ipotalamici del nucleo arcuato. Vi è poi la grelina, un ormone peptidico (28 amminoacidi) prodotto dalle cellule del fondo gastrico e dalle cellule del nucleo arcuato che stimola la secrezione di GH e, agendo a livello ipotalamico, stimola a breve termine l'assunzione di cibo durante il digiuno stimolando la produzione di NRY. I livelli di grelina aumentano durante il digiuno e si riducono dopo il pasto ma l'entità della riduzione è inferiore nei soggetti obesi. Nelle persone affette dalla sindrome di Prader-Willi vi è una forma di grave obesità giovanile che è conseguente alla polifagia indotta dagli elevati livelli di grelina. Altre molecole oressizzanti sono le Orexine A e B,

prodotte a livello ipotalamico e dei plessi nervosi intestinali. Un importante ormone peptidico (34 amminoacidi) è il Peptide YY (3–36), prodotto dalle cellule L dell'intestino tenue e del colon, in risposta all'ingresso di cibo nello stomaco. Questo ormone agisce a livello di nucleo arcuato, dove inibisce il rilascio di NRY, riducendo l'assunzione di cibo dopo il pasto nel breve termine, la secrezione acido gastrica, lo svuotamento gastrico, la motilità intestinale e la secrezione di enzimi pancreatici. Altri peptidi anoressizzanti sono la colecistochinina, il glucagon-like peptide 1 (GLP1) e l'oxintomodulina di derivazione intestinale, l'amilina, l'enterostatina e il polipeptide pancreatico, prodotti a livello pancreatico. La colecistochinina (CCK) è prodotta dalle cellule L dell'intestino tenue e stimola lo svuotamento della colecisti, la secrezione di enzimi digestivi e ritarda lo svuotamento gastrico. L'effetto anoressizzante è mediato dal nervo vago, i livelli postprandiali di CCK sono più bassi nei soggetti obesi rispetto ai normopeso. Il GLP-1 è prodotto dalle cellule L intestinali e in misura minore dal pancreas e dall'ipotalamo. Esso ha un effetto anoressizzante, inibisce la sintesi di glucagone e aumenta quella di insulina. La produzione di GLP-1 è inferiore negli obesi. Un'altra molecola anoressizzante è l'apolipoproteina A-IV, prodotta dagli enterociti in risposta a un pasto lipidico. La dopamina e la noradrenalina hanno azione oressizzante o anoressizzante in base ai neuroni che vengono stimolati. Un altro sistema preposto al mantenimento della massa corporea è dato dai recettori del perossisoma attivati dalla proliferazione (PPAR). Questi recettori riconoscono come ligando gli acidi grassi e agiscono come fattori di trascrizione legandosi alle regioni regolatrici del DNA dei geni che controllano. Essi presiedono all'omeostasi lipidica e glucidica. Il PPAR δ , ad esempio, favorisce l'ossidazione lipidica e la termogenesi. Nei topi *db/db* previene l'insorgenza dell'obesità. Per questo motivo, questi recettori sono oggetto di studio in quanto possibili bersagli molecolari per un eventuale trattamento farmacologico (Wren et al., 2000; Nelson e Cox, 2005; Morton et al., 2006; Atkinson, 2008; Hameed et al., 2009; Cama e Cama, 2010).

La leptina svolge anche un ruolo nella regolazione di diverse funzioni endocrine. Alcuni studi condotti su cellule pituitarie di ratto hanno dimostrato un ruolo nell'insorgenza della pubertà, dato da un'azione permissiva sulla secrezione basale delle gonadotropine ipofisarie e su quella GnRh dipendente (Ogura et al., 2001). Nel topo è stato dimostrato che il digiuno e il neuropeptide Y inibiscono il rilascio di gonadotropine mentre la leptina lo favorisce (Ahima, 1996). Nell'uomo, la mutazione in omozigosi del recettore della leptina è associata a mancato sviluppo puberale, a una riduzione nella secrezione di GH e di TSH e a un aumento di CRH che porta a alti livelli di

glucocorticoidi. Nelle donne è necessaria una quantità minima di tessuto adiposo per il mantenimento del ciclo mestruale anche se pure l'obesità è associata ad amenorrea. Nei cani ipotiroidei si osserva un aumento delle concentrazioni di leptina rispetto agli eutiroidei, indipendentemente dallo stato di nutrizione e dalla composizione corporea (Clement et al., 1998; Mazaki-Tovi et al., 2010).

La leptina è coinvolta nel determinismo dell'ipertensione, attraverso l'attivazione del sistema renina-angiotensina, poiché stimola l'espressione degli mRNA per l'angiotensinogeno negli adipociti (Frederich et al., 1992). In corso di insufficienza cardiaca congestizia, la leptina svolge un ruolo nel determinismo dello stato catabolico conseguente allo sviluppo di cachessia cardiaca, attraverso lo stimolo alla produzione di TNF- α e di altre citochine pro-infiammatorie (Levine et al., 1990; Ferrari, 1997; Leyva et al., 1998; Filippatos et al., 2000; Schulze et al., 2003; Nakamura, 2013). Nei pazienti umani con insufficienza cardiaca concorre all'attivazione delle citochine anche lo stato endotossiemico dovuto ai fenomeni di translocazione batterica che si realizzano a livello intestinale per l'edema (Niebauer et al., 1999).

La leptina ha un'azione anche pro-infiammatoria poiché favorisce la chemiotassi dei neutrofili, lo scoppio respiratorio, l'attivazione dei macrofagi, delle cellule dendritiche e delle cellule NK, la differenziazione dei linfociti T helper naive verso il fenotipo Th1. I linfociti Th1 stimolano le cellule citotossiche e attivano i macrofagi (Poli e Cocilovo, 1998). Essa può influenzare l'omeostasi del timo e la secrezione di fattori immunomodulanti come l'interleuchina 1 e il TNF- α . Inoltre, promuove lo stress ossidativo, l'infiammazione vascolare e la proliferazione e la migrazione delle cellule muscolari ed endoteliali, favorendo l'aterosclerosi e il possibile sviluppo o progressione di patologie autoimmuni come il diabete mellito di tipo 1, la sclerosi multipla e l'encefalomielite. In fase acuta, venendo prodotta ad alti livelli durante l'infiammazione, la sepsi e la febbre, può agire come fattore immunomodulante insieme alla proteina C Reattiva, all'interleuchina 1 e all'interleuchina 6. La leptina modula il sistema immunitario agendo sui recettori espressi sulla membrana plasmatica di macrofagi, monociti, cellule polimorfonucleate e linfociti, sia CD4+ che CD8+. In vitro, la leptina ha un effetto proliferativo e antiapoptotico su diverse cellule, quali i linfociti T, potenzia l'attività fagocitica dei macrofagi e favorisce la produzione di IL-2, TNF- α e IFN- γ . Il riscontro dell'mRna codificante per la leptina a livello dei linfociti B, suggerisce l'esistenza di un ruolo della leptina sul

controllo dell'immunità umorale. La promozione dell'angiogenesi da parte della leptina potrebbe favorire la cicatrizzazione dei tessuti. La leptina ha dimostrato un ruolo importante nel rimodellamento della matrice extracellulare, tramite la regolazione delle metalloproteinasi (Friedman e Halaas, 1998; Lord, 2006; Matarese et al., 2010; Fernandez-Sanchez, 2011).

La prolattina stimola la produzione di leptina a livello mammario ove esercita un effetto autocrino e paracrino favorendo la proliferazione dei dotti e del tessuto alveolare mammario durante la gravidanza. Inoltre, durante la lattazione influenza la qualità delle proteine del latte e ritarda l'involutione del tessuto mammario (Lin e Li, 2005).

La leptina può avere un ruolo nella patogenesi dell'obesità quando vi è una mutazione del suo gene o quando vi sono mutazioni del suo recettore o del recettore 4 della melanocortina, che si accompagnano a uno stato di iperleptinemia. La mutazione del gene *LEP* è un evento raro, più frequentemente le alterazioni interessano i recettori.

L'iperleptinemia, inoltre, e un'eventuale resistenza alla leptina, si manifestano attraverso una disfunzione cardiaca, in seguito ad una alterazione del sistema cardiaco mitocondriale nei cani obesi. Allo stesso modo, una sua mancata regolazione è probabilmente coinvolta nella fisiopatologia della pancreatite. Recenti studi clinici, inoltre, hanno dimostrato come, su 19 pazienti affetti da malattia autoimmune, 9 di questi risultassero dotati di alti livelli sierici di leptina e come tali possano essere utilizzati come marker diagnostici. Tuttavia, gli studi tuttora presenti non sono riusciti a esplicitare il ruolo molecolare della leptina in corso di malattia autoimmune e di comprenderne l'eventuale bersaglio terapeutico per il trattamento delle stesse. Per il futuro sarà dunque fondamentale eseguire ulteriori studi per comprendere il ruolo proinfiammatorio della leptina, insieme all'associato aumento di peso, anche e soprattutto in previsione della stretta correlazione tra l'eziopatogenesi canina e quella umana (Cortese L. et al., 2019)

4.2 Adiponectina

L'adiponectina è un ormone proteico (247 amminoacidi) prodotto quasi completamente dagli adipociti, strutturalmente omologo al collagene di tipo VIII e X e al fattore C1q del complemento, che circola in un range di forme multimeriche stabili a basso peso molecolare e ad alto peso molecolare. Nell'uomo e nei roditori si ipotizza che venga prodotta anche a livello del muscolo cardiaco (Pineiro et al., 2005; Yamauchi e Kadowaki, 2008).

Nell'uomo, i livelli plasmatici di adiponectina diminuiscono nell'obesità e nell'insulino-resistenza e aumentano con la perdita di peso. Tale diminuzione può derivare dall'inibizione della secrezione da parte delle molecole che aumentano nei soggetti obesi, come il TNF- α . La concentrazione plasmatica di adiponectina è in proporzione inversa con il BMI, la massa grassa, l'insulinemia a digiuno e la trigliceridemia e in proporzione diretta con la colesterolemia HDL (Arita et al., 1999; Matsubara et al., 2002; Sikaris, 2004; Matsuzawa, 2006; Fernandez-Sanchez, 2011). Essa svolge, inoltre, un ruolo nell'omeostasi glucidica e lipidica. Nei miociti aumenta l'assunzione degli acidi grassi dal sangue, ne favorisce la β -ossidazione e la glicolisi. Negli epatociti inibisce la gluconeogenesi, la sintesi di trigliceridi e favorisce la captazione di glucosio e la glicolisi. Ciò porta a una riduzione delle concentrazioni di glucosio e di NEFA nel sangue (Sikaris, 2004). Questi effetti non sono diretti ma dovuti all'attivazione della proteina chinasi AMP-dipendente (AMPK), che agisce fosforilando diverse proteine coinvolte nel metabolismo lipidico e glucidico. L'adiponectina ha anche un'azione insulinosensibilizzante, sia diretta, che conseguente all'inibizione della produzione di TNF- α e in vitro stimola anche la secrezione, glucosio-dipendente, di insulina. I topi con mutazione del gene per l'adiponectina presentano insulino-resistenza e scarsa tolleranza al glucosio. La carenza di adiponectina, che si osserva nei soggetti obesi, potrebbe essere alla base del diabete mellito di tipo

II. I recettori dell'adiponectina sono espressi dalle cellule beta del pancreas e la molecola agisce impedendo l'accumulo di lipidi che, attraverso l'induzione dell'apoptosi cellulare, potrebbe concorrere alla progressione dell'insulino-resistenza in diabete mellito di tipo 2 a causa del deficit insulinico (Kharroubi et al., 2003; Rakatzi et al., 2004; Huypens et al., 2005). Si è visto, inoltre, che alcuni farmaci utilizzati per il trattamento del diabete mellito di tipo II, come i tiazolidinioni, agiscono aumentando l'espressione dell'mRNA per l'adiponectina nel tessuto adiposo, portandone un aumento dei livelli plasmatici (Goldfine et al., 2003; Ravussin et al., 2003; Nelson e Cox, 2005; Maury e Brichard, 2010; Patané et al. 2013). La molecola ha azione antinfiammatoria e antiaterogena, poiché regola negativamente la crescita delle cellule progenitrici della linea

mielomonocitica. Essa inibisce, inoltre, la produzione e gli effetti del TNF- α , stimolante fibroblasti, cellule endoteliali e cheratinociti a produrre interleuchina 6, principale regolatore della sintesi delle proteine della fase acuta a livello epatico. Inibisce l'attivazione dell'endotelio vasale, l'adesione e la diapedesi dei monociti, la trasformazione dei macrofagi in foam cell (Ouchi et al., 2002; Castell et al., 2009; Maury e Brichard, 2010). L'isoforma globulare inibisce la proliferazione cellulare, la produzione dei ROS e l'ossidazione delle LDL, durante il processo ateromatoso (Fernandez-Sanchez, 2011). L'aumento dei livelli plasmatici di adiponectina è correlato alla riduzione dei livelli di proteina C-reattiva e a un aumento della produzione di ossido nitrico, che con la sua azione vasodilatante, impedisce l'infiltrazione leucocitaria, prevenendo aterosclerosi e vasculite cronica (Maury e Brichard, 2010; Fernandez-Sanchez, 2011).

Nel cane è stato dimostrato che i livelli di adiponectina diminuiscono nell'obesità e aumentano durante la perdita di peso. In altri studi si è visto, invece, che le concentrazioni di adiponectina nei cani obesi non erano inferiori a quelle dei cani normopeso e non è stata dimostrata la correlazione tra i livelli di adiponectina e l'insulino-resistenza. Secondo alcuni autori, sembrerebbe influenzare i livelli di adiponectina anche lo stato di sterilizzazione, che sarebbe correlato alla mancata diminuzione dei livelli circolanti nei cani obesi sterilizzati. (Ishioka et al., 2006; Eirmann et al., 2009; Verkest et al., 2011; Tvarijonaviciute et al., 2012a; Bastien et al., 2015; Castro et al., 2015; Tropf et al., 2017).

4.3 Fattore di Necrosi Tumorale – alfa (TNF- α)

Il TNF- α è una citochina pro-infiammatoria prodotta principalmente da macrofagi, mastociti, linfociti, cellule NK, astrociti, fibroblasti e, in parte, dagli adipociti. Deve il suo nome all'attività di citotossicità per le cellule tumorali. Svolge un ruolo fondamentale nel determinare lo stato infiammatorio cronico e l'insulino-resistenza che si osserva nei soggetti obesi (Ouchi et al. 2011). La molecola ha, inoltre, un'azione anoressizzante mediata dalla stimolazione dei neuroni ipotalamici che producono CRH. Il TNF- α svolge la sua azione pro-infiammatoria, favorendo la proliferazione, lo scoppio respiratorio e l'attività fagica dei macrofagi. Stimola, inoltre, fibroblasti, cellule endoteliali e cheratinociti a produrre interleuchina 6, principale regolatore della sintesi delle proteine della fase

acuta a livello epatico, e inibendo la produzione di fibrinogeno, albumina e transferrina (Castell et al., 2009). Il TNF- α svolge un'azione nel determinismo dell'insulino-resistenza. L'esposizione delle cellule al TNF- α provoca la fosforilazione dei residui di serina di IRS-1, impedendone l'attivazione da parte del dominio tirosin-chinasico del recettore dell'insulina. Ciò blocca la trasduzione del segnale e porta a una downregulation di GLUT-4. Inoltre, riduce le concentrazioni di adiponectina che ha azione insulino-sensibilizzante e insulinogoga. Il TNF- α favorisce la lipolisi negli adipociti, portando all'aumento dei livelli ematici di acidi grassi liberi. Essi, causando lipotossicità delle cellule beta del pancreas, possono favorire lo sviluppo di diabete mellito di tipo 2 (Maury e Brichard, 2010; Fernandez-Sanchez, 2011; Patané et al. 2013). Il TNF- α ha anche un'azione di preconditionamento ischemico del miocardio e un effetto proaterogeno, dato dall'upregulation di molecole di adesione sulle plasmamembrane delle cellule endoteliali e miointimali e dall'induzione dell'espressione dell'inibitore di tipo I, dell'attivatore del plasminogeno, da parte dell'endotelio vasale. Presenta anche effetto inibitorio sui precursori ematopoietici (Keinbongard et al., 2010; Mantovani et al., 2010; Fernandez-Sanchez, 2011; Nakamura, 2013).

Nel cane, elevati livelli di TNF- α sono stati riscontrati nei soggetti obesi, nei quali si riducono l'espressione di leptina e di adiponectina negli adipociti. Con la perdita di peso, si assiste a una riduzione dei livelli circolanti. Tuttavia in alcuni studi non sono stati riscontrati valori significativamente differenti tra cani obesi e normopeso (Gayet et al., 2004; Ryan et al., 2008; Eirmann et al., 2009; German et al., 2009; Bastien et al., 2015; Tropf et al., 2017).

4.4 Interleuchina 6 (Il-6)

L'interleuchina 6 è una citochina pro-infiammatoria che stimola la produzione di proteine della fase acuta, come la proteina C reattiva e l'epcidina. Promuove, inoltre, la maturazione delle piastrine, dei linfociti T e B e la secrezione delle IgG, IgM e IgA dalle plasmacellule, è un pirogeno endogeno e insieme al TNF- α inibisce la produzione di adiponectina. L'interleuchina 6 è prodotta da monociti, macrofagi, adipociti, fibroblasti, cellule T helper, cellule endoteliali e cheratinociti. Per la produzione di Il-6, le cellule devono essere stimulate dal TNF- α o dall' Il-1. I livelli sierici di Il-6 aumentano nei pazienti obesi e anche nei pazienti umani non obesi affetti da diabete mellito di tipo 2. Ciò suggerisce

che la molecola possa avere un ruolo nel determinismo dell'insulino-resistenza, attraverso la soppressione delle attività metaboliche epatiche stimulate dall'insulina, come l'ossidazione degli acidi grassi e l'inibizione della gluconeogenesi (Castell et al., 1989). I glucocorticoidi ne inibiscono il rilascio da parte dei monociti ma aumentano l'effetto stimolante sulla sintesi delle proteine della fase acuta da parte degli epatociti (Woloski et al., 1985). Anche l'Il-6 ha un effetto proaterogeno dato dall'upregulation di molecole di adesione sulle plasmamembrane delle cellule endoteliali e miointimali.

Nel cane, in diversi studi, i livelli di Il-6 non sono risultati aumentati nei soggetti obesi e non si sono riscontrate variazioni dopo la perdita di peso. Ciò suggerisce che occorrono studi ulteriori per indagare il reale significato di questa citochina nell'obesità canina. Per quanto riguarda le concentrazioni delle proteine della fase acuta, gli studi riportano risultati discordanti (Eirmann et al., 2009; German et al., 2009; Tvarijonaviciute et al., 2012; Bastien et al., 2015; Tropf et al., 2017).

5. Trattamento dell'obesità

Nelle persone obese e normopeso che praticano restrizione calorica, per il controllo del peso, esso è costante ma non sempre la dieta è efficace nel lungo periodo e molti soggetti obesi che riducono il proprio peso corporeo, poi tendono a riacquistarlo (Wadden, 1993). La somministrazione di farmaci anoressizzanti, come la serotonina o gli antagonisti del neuropeptide Y, può essere di una qualche utilità. In passato sono stati utilizzati i derivati amfetaminici, agonisti serotoninergici e quindi anoressizzanti ma oggi non trovano largo impiego a causa dei loro effetti tossici. Infatti è stata dimostrata una correlazione con l'ipertensione polmonare e le valvulopatie. La somministrazione di leptina esogena può risolvere le rare forme di obesità dovute a mutazione del gene *LEP* ma occorre comunque considerare che anche altri fattori sono coinvolti nel controllo del peso corporeo oltre alla leptina. Può essere utile la somministrazione di inibitori della lipasi gastrica, per ridurre l'assorbimento intestinale di trigliceridi (Guerciolini, 1997). Fondamentale è un programma di

esercizio fisico che previene alcune complicanze ma può peggiorarne altre come l'osteoartrite. Le patologie correlate richiedono i trattamenti previsti sebbene la riduzione di peso può comportare importanti miglioramenti (Morris and Froelicher, 1993; Lane, 1995).

Nel cane la gestione del peso è realizzata attraverso un piano di razionamento della dieta e un programma di esercizio fisico. Prima, però, di intraprendere il programma di dimagrimento, occorre escludere patologie predisponenti che richiedono trattamento, quali l'ipotiroidismo, l'iperadrenocorticismo e la somministrazione di farmaci che stimolano l'appetito, come gli anticonvulsivanti, i glucocorticoidi e i progestinici.

L'esercizio fisico deve essere modulato in base alle condizioni cliniche del singolo paziente, in quanto è stato dimostrato che favorisce il mantenimento della massa magra, aumenta il dispendio energetico e la velocità metabolica, ha un'azione insulino-sensibilizzante, riduce il rischio di alcune patologie ma può favorirne o peggiorarne altre come la rottura del legamento crociato e l'osteoartrite, per la quale può essere preferibile il nuoto o l'idroterapia (Chauvet et al., 2011).

Il clinico, prima di intraprendere il programma dietetico, definisce il peso che vuole che l'animale raggiunga, indicato come peso target. Questo non necessariamente corrisponde al peso ideale previsto dallo standard di razza ma è definito in base allo stato di salute, all'età e alla razza dell'animale. Il trattamento, infatti, mira a una riduzione completa del peso nei soggetti giovani e sani e a una riduzione parziale in quelli anziani e con malattie concomitanti. Una volta definito il peso target, il clinico calcola il fabbisogno energetico dell'animale in funzione di esso e procede a determinare un'ulteriore restrizione calorica, variabile dal 20% al 45% del fabbisogno. Una lieve restrizione calorica può essere utile, a scopo preventivo, in animali sottoposti a sterilizzazione o in razze predisposte. Il mangime utilizzato può essere quello di mantenimento, somministrato a una quantità ridotta oppure un mangime formulato appositamente per favorire la perdita di peso. Questi mangimi sono da preferire perché hanno una ridotta densità energetica, dovuta alla riduzione del contenuto lipidico, all'aggiunta di fibre, alla preparazione di pellet estrusi ad aria o all'aumento dell'umidità nei mangimi umidi. Prevedono inoltre un livello elevato di nutrienti essenziali, come amminoacidi e acidi grassi essenziali, minerali e vitamine, che prevengono la malnutrizione. L'impiego del mangime di mantenimento, invece, aumenta il rischio di malnutrizione. Può essere impiegato un mangime caratterizzato da un alto contenuto in fibre, che favoriscono il

senso di sazietà, riducendo l'assunzione spontanea di cibo e la densità energetica della razione. Ancora può essere utilizzato un mangime ad elevato contenuto proteico, per consentire il mantenimento o l'aumento della massa magra, il lavoro metabolico digestivo e di conseguenza il dispendio energetico. La somministrazione di fibre porta a cambiamenti nella composizione del microbiota intestinale, stimolando la produzione di acidi grassi volatili, che potrebbero avere un ruolo nel mantenimento del peso corporeo. Nei cani obesi, infatti, si verificano cambiamenti nel microbiota intestinale, dati da una riduzione della variabilità delle popolazioni batteriche, con maggior prevalenza dei Gram negativi. Queste alterazioni possono modificare la produzione di molecole preposte al controllo dell'appetito e potrebbero essere correlate allo stato infiammatorio cronico, favorendo il rilascio delle adipochine (Markwell et al., 1994; Butterwick et al., 1997; Burkholder e Bauer, 1998; Dobenecker e Kienzle, 1998; Diez et al., 2002; Blanchard et al. 2004; Park et al., 2015; Kieler et al., 2017).

Può essere utile includere nel razionamento alcuni principi nutritivi, come la L-carnitina, i digliceridi e alcune sostanze di derivazione vegetale come la phaseolamina. La carnitina favorisce il dimagrimento perché aumenta il consumo dei grassi come fonte energetica, dal momento che facilita l'ingresso degli acidi grassi a catena lunga nei mitocondri. Essa, inoltre, favorisce il mantenimento della massa magra, perché rende disponibile l'energia derivante dal catabolismo lipidico per le sintesi proteiche. I digliceridi favoriscono la riduzione delle concentrazioni plasmatiche di colesterolo e trigliceridi e la riduzione del peso corporeo (Kotaru et al., 1987; Sunvold et al., 1998; Gross e Zicker, 2000; Umeda et al., 2006; Obiro et al., 2008).

Si consiglia di suddividere la razione in più pasti giornalieri, in quanto ciò contribuisce all'aumento del metabolismo e del senso di sazietà.

Possono essere d'ausilio anche alcuni farmaci, come la mitratapide e la dirlotapide, che riducono l'appetito. Questi farmaci agiscono prevalentemente a livello degli enterociti e sono inibitori selettivi della triglycerid transfer protein, riducono l'assorbimento di grasso, favorendone l'eliminazione con le feci. La sazietà sembra essere conseguente all'invio di segnali anoressizzanti, come il Peptide YY e il glucagon-like peptide 1, da parte degli enterociti che sono colmi di lipidi. La dirlotapide può essere somministrata anche consecutivamente per 12 mesi, la mitratapide per due periodi di tre settimane, con due settimane di sospensione. L'effetto anoressizzante si perde al

termine del trattamento per cui è fondamentale proseguire anche con la terapia dietetica (Wren et al., 2007; Dobenecker et al., 2009).

Un nuovo approccio terapeutico è quello nutrigenomico, che si basa sulla somministrazione di principi nutritivi che possano modulare l'espressione di determinati geni, favorendo la perdita di peso. In uno studio su cani beagle resi obesi con una dieta ad alto contenuto di grassi, è stata osservata una riduzione degli mRNA della proteina disaccoppiante (UPC-1) e dei recettori del perossisoma attivati dalla proliferazione (PPAR). Ciò suggerisce che queste molecole possano svolgere un ruolo nello sviluppo dell'obesità (Leray et al., 2004). La somministrazione di fruttooligosaccaridi a corta catena porta a un aumento dello smaltimento di glucosio, che è dovuto all'aumentata espressione di UPC-2 e a un aumento dell'espressione della carnitina palmitoil-transferasi. La somministrazione dell'estratto di tè verde ha dimostrato di modificare l'espressione dei geni coinvolti nel metabolismo lipidico e glucidico. Infatti, esso aumenta l'espressione di PPAR, LPL, GLUT4 e adiponectina nel tessuto adiposo e di PPAR e LPL in quello muscolare scheletrico. Attualmente è disponibile un mangime che pur non avendo una riduzione del contenuto energetico, favorisce la perdita di peso mediante la riduzione dei depositi adiposi e il mantenimento della massa magra, attraverso effetti di modulazione dell'espressione di alcuni geni coinvolti nel metabolismo, portando anche ad una riduzione del rischio di recidiva (Respondek et al., 2008; Serisier et al., 2008; Christmann et al., 2015).

L'animale non dovrebbe perdere più del 2% del peso corporeo a settimana, quindi il programma dietetico può anche richiedere diversi mesi. Questo calo progressivo del peso corporeo è dovuto a diverse ragioni. Un dimagrimento più rapido richiede una notevole riduzione della quantità di cibo e ciò potrebbe ridurre la compliance del proprietario per il comportamento elemosinante del cane. Inoltre un dimagrimento rapido provoca una significativa riduzione della massa magra ed è più frequentemente associato al recupero del peso perso dopo la sospensione del programma dietetico (Markwell et al., 1994). Questo può essere spiegato con i cambiamenti dell'attività riguardanti l'isoenzima del tessuto adiposo della lipoproteina lipasi (LPL), espresso sull'endotelio. Tale isoenzima idrolizza i trigliceridi provenienti dalle lipoproteine VLDL e dai chilomicroni e porta alla formazione di acidi grassi e glicerolo, i quali poi vengono riesterificati in trigliceridi nel tessuto adiposo ove si accumulano. Tale attività enzimatica è incrementata nei soggetti obesi e rimane

elevata anche dopo la perdita di peso, questo potrebbe favorire il rapido recupero del peso (Nagaoka et al., 2009). I soggetti dovrebbero essere visitati ogni due settimane per valutare il peso e il BCS e effettuare eventuali modifiche dell'apporto calorico. Dopo 2-3 mesi dal termine del programma dietetico il cane andrebbe rivalutato per escludere eventuali recidive.

La riduzione del peso riduce il rischio di sviluppare patologie correlate, aumenta l'aspettativa di vita e favorisce il benessere dell'animale, migliorando la qualità della vita. Per il successo terapeutico è fondamentale la compliance del proprietario che deve correggere comportamenti alimentari dannosi, quali la somministrazione di snack ipercalorici e di cibo non adatto. La prevenzione dell'obesità è sicuramente più efficace del trattamento che spesso porta a insuccessi o è seguito da recidive (Burkholder e Bauer, 1998; Kienzle et al., 1998).

PARTE SPERIMENTALE

6. Introduzione

Così come i metodi d'allevamento, anche le razze bufaline sono tante e diversificate nella loro distribuzione territoriale. Tra le principali razze, quelle più importanti sono: il bufalo d'acqua (Bufalo asiatico – *Bubalus bubalis*), con due sottospecie, bufalo di fiume e di palude, i quali differiscono per caratteristiche morfologiche, comportamentali e genetiche (50 cromosomi in quello di fiume – 48 in quello di palude). In Italia, esiste una sola razza, ovvero il bufalo mediterraneo di origine asiatica (Borghese 2005) ed il patrimonio bufalino italiano è di circa 403.093 capi distribuiti in 2208 allevamenti (Anagrafe Nazionale Zootecnica – Statistiche, 2018).

La specie bufalina si caratterizza per una spiccata capacità di adattamento all'ambiente, agli ecto ed endoparassiti e per la notevole capacità di migliorare l'efficienza di utilizzazione degli alimenti in condizioni di carenza foraggiera. Tutto ciò ne ha permesso l'allevamento in territori paludosi, interessati da produzioni grossolane, creando una buona economia anche in territori in cui in passato era impensabile un'attività zootecnica e/o agricola (Zicarelli e Campanile, 2001). In pochi decenni, grazie alle elevate potenzialità produttive di questa specie e alla sua grande versatilità e diversificazione, l'allevamento bufalino è notevolmente incrementato non limitandosi più a quelli che erano considerati "territori marginali" ma trasformandosi in un tipo di produzione altamente specialistica.

L'impiego del bufalo come produttore di carne ha sempre ricoperto un ruolo marginale, limitandosi a realtà specifiche o a particolari esigenze, utilizzando ad esempio a tale scopo i vitelli che erano abbattuti oltre i due anni di età. Questo perché la carne di questi animali non sempre è stata apprezzata dal consumatore, anche perché spesso quella derivante da soggetti in buono stato di nutrizione veniva venduta come bovina mentre quella di qualità scadente veniva proposta come bufalina. Ciò non ha incentivato i consumi di tale derrata, in special modo nelle zone tradizionali di allevamento, sebbene l'utilizzo di maschi e manze non adatti alla riproduzione e alla rimonta potrebbe valorizzare ulteriormente questo tipo di allevamento e offrire una valida alternativa alla sola produzione da latte per la caseificazione.

Negli ultimi anni, sono stati diversi i tentativi di “riabilitazione” della carne bufalina, anche per rispondere a quelle che sono le nuove esigenze di mercato. Infatti, si assiste sempre più frequentemente ad una disaffezione dei consumatori all’impiego della più classiche carni rosse impiegate. In particolare, a svantaggio della carne bovina hanno giocato un ruolo determinante le modalità di allevamento intensivo, la diffusione di notizie inerenti, l’impiego di sostanze per favorire l’accrescimento dannose per la salute umana e l’uso non corretto degli antibiotici associato al non rispetto dei tempi di sospensione. Tutto ciò, ha portato ad un nuovo interesse nei confronti dell’allevamento bufalino da carne, con lo sviluppo di diverse ricerche volte a valutarne le caratteristiche nutrizionale e l’effetto della sua introduzione nei diversi regimi dietetici.

Caratteristiche dietetico-nutrizionali della carne di bufalo

Varie sono le differenze, sia dal punto di vista nutrizionale che dietetico, tra la carne di bufalo e la più diffusa carne bovina.

La carne bufalina rispetto a quella bovina contiene una minore quantità di grasso di infiltrazione, ed una notevole quantità di grasso di copertura, facilmente separabile dalla parte magra. In più, a parità di maturità del soggetto e di peso della carcassa si ha uno scarto maggiore, in quanto l’accumulo del tessuto lipidico avviene principalmente a livello addominale: loggia renale, omento, pelvi e mesentero.

Di contro, bisogna considerare che la specie bufalina è caratterizzata da un accrescimento più lento e da un indice di conversione alimentare non dissimile da quello bovino, motivo per il quale la produzione della carne di bufalo risulta essere più costosa rispetto a quella bovina. Risulta quindi evidente che un simile prodotto debba necessariamente essere dotato di elevate caratteristiche nutrizionali e che richieda un’elevata specializzazione in tutte le fasi del processo produttivo.

Le caratteristiche nutrizionali e dietetiche della carne bufalina, almeno sotto determinati aspetti, risultano migliori rispetto a quelle della carne bovina, in quanto presentano:

- minore concentrazione di lipidi totali (1.3%) grazie anche ad una piccolissima quota di grasso di infiltrazione; ridotto contenuto di colesterolo (41.3 mg/100 g) grazie alla presenza di acidi grassi monoinsaturi (MUFA), ed in particolare dall’acido oleico (C18:1), in grado di ridurre l’ossidazione del colesterolo LDL (Parthasarathy et al., 1990); nonostante questa minore

quantità di grassi, non si assiste una riduzione dell'HDL, fattore protettivo nei confronti delle patologie coronariche;

- percentuali inferiori di acidi grassi saturi (38.4%) e superiori di acidi grassi monoinsaturi (37.3%) e polinsaturi (24.3%) rispetto al bovino; il motivo per cui il rapporto dei grassi plinsaturi/saturi risulti più basso nel bovino è che i primi subiscono un processo di idrogenazione da parte dei microrganismi ruminali;
- funzione anti-aterogenetica (ω -6) (Ulbricht and Southgate, 1991);
- attività anti-trombogenica (ω -3) (Ulbricht and Southgate, 1991);
- migliore composizione aminoacidica delle proteine; infatti (Landi et al. 2016), ha comparato la composizione proteica del muscolo Longissimus dorsi bufalino e bovino, da ciò è emersa non solo una maggiore quantità di proteine (21,13 g / 100 g) nel bufalo rispetto al bovino (19,23 g / 100 g) (USDA, 2015); ma anche una migliore qualità delle stesse (maggiore quantità in aminoacidi essenziali);
- livelli superiori di ferro e zinco;
- maggiori quantità di vitamina B6 e B12, ma minori in vitamine A, E e C (Intakes, 2011).

Per quanto riguarda le caratteristiche organolettiche, la carne bufalina presenta:

- un minore contenuto in idrossiprolina, risultando pertanto più tenera e richiedendo, così, un minore lavoro di masticazione;
- un maggiore potere di ritenzione idrica, risultando quindi, più succosa.

Effetti sulla salute umana

Nel 2010 Giordano et al. hanno effettuato uno studio osservazionale sull'introduzione della carne bufalina nella dieta di 300 soggetti adulti divisi in 3 gruppi (regolari consumatori, consumatori recenti, non consumatori di carne di bufalo). A 12 mesi dall'inizio dello studio è emerso che i consumatori regolari mostravano una significativa diminuzione di patologie cardiovascolari, formazione di placche aterosclerotiche, un migliore profilo lipidico ed inferiore sensibilità allo stress ossidativo rispetto ai soggetti non consumatori.

Ancora, nel 2013 McDaniel et al., hanno condotto uno studio basato sulla valutazione di 14 soggetti maschi sani a cui veniva somministrata sistematicamente una porzione standardizzata di carne di

bufalo o bovino. A questi soggetti venivano monitorati lipidi ematici, marker infiammatori e stress ossidativo. Dallo studio è emerso il consumo di carne di bufalo sia nel breve che nel lungo termine porta una riduzione dei rischi aterogenetici e dello stress ossidativo.

Pertanto, si comprende l'importanza dell'aspetto dietetico-nutrizionale di questo pregiato prodotto, che grazie alle caratteristiche precedentemente elencate risulta essere superiore a quello bovino.

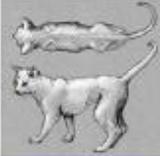
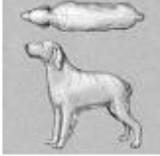
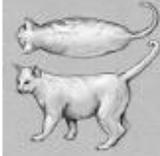
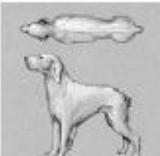
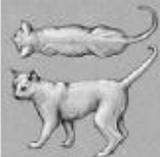
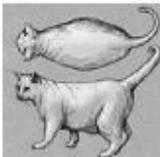
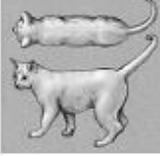
Lo scopo della presente tesi è stato quello di valutare l'efficacia dietetica della carne di bufalo nella dieta del cane obeso. È stata quindi esaminata la possibilità di impiegare la carne bufalina nella gestione alimentare di patologie nelle quali l'apporto lipidico deve essere necessariamente ridotto.

7. Materiali e metodi

7.1 Arruolamento

Lo studio ha previsto l'arruolamento di un totale di 17 cani, suddivisi in due gruppi (Gruppo Studio e Gruppo Controllo). I soggetti, di età compresa tra i 2 e i 15 anni, appartenenti a diverse razze e di ambo i sessi, sono stati selezionati in base al loro stato di nutrizione. In particolare, è stato utilizzato il sistema del Body Condition Score con scala a 5 punti (Laflamme, 1997), valutato sempre dallo stesso operatore (Figura 1), e sono stati selezionati tutti i soggetti che avevano uno score di 4 o 5.

Body Condition Scoring (BCS) Systems

5 Point	9 Point	Description		5 Point	9 Point	Description	
1/5	1/9	<p>Dogs: Ribs, lumbar vertebrae, pelvic bones and all bony prominences evident from a distance. No discernible body fat. Obvious loss of muscle mass.</p> 		3.5/5	6/9	<p>Dogs: Ribs palpable with slight excess fat covering. Waist is discernible viewed from above but is not prominent. Abdominal tuck apparent.</p> <p>Cats: Shared characteristics of BCS 5 and 7.</p>	
		<p>Cats: Ribs visible on short-haired cats; no palpable fat; severe abdominal tuck; lumbar vertebrae and wings of ilia obvious and easily palpable.</p> 		4/5	7/9	<p>Dogs: Ribs palpable with difficulty; heavy fat cover. Noticeable fat deposits over lumbar area and base of tail. Waist absent or barely visible. Abdominal tuck may be present.</p> <p>Cats: Ribs not easily palpable with moderate fat covering; waist poorly distensible; obvious rounding of abdomen; moderate abdominal fat pad.</p>  	
1.5/5	2/9	<p>Dogs: Ribs, lumbar vertebrae and pelvic bones easily visible. No palpable fat. Some evidence of other bony prominence. Minimal loss of muscle mass.</p> <p>Cats: Shared characteristics of BCS 1 and 3.</p>					
		<p>Dogs: Ribs easily palpated and may be visible with no palpable fat. Tops of lumbar vertebrae visible. Pelvic bones becoming prominent. Obvious waist.</p> 		4.5/5	8/9	<p>Dogs: Ribs not palpable under very heavy fat cover, or palpable only with significant pressure. Heavy fat deposits over lumbar area and base of tail. Waist absent. No abdominal tuck. Obvious abdominal distention may be present.</p> <p>Cats: Shared characteristics of BCS 7 and 9.</p>	
2/5	3/9	<p>Cats: Ribs easily palpable with minimal fat covering; lumbar vertebrae obvious; obvious waist behind ribs; minimal abdominal fat.</p> 					
		<p>Dogs: Ribs easily palpable, with minimal fat covering. Waist easily noted, viewed from above. Abdominal tuck evident.</p> <p>Cats: Shared characteristics of BCS 3 and 5.</p>		5/5	9/9	<p>Dogs: Massive fat deposits over thorax, spine and base of tail. Waist and abdominal tuck absent. Fat deposits on neck and limbs. Obvious abdominal distention.</p> 	
2.5/5	4/9					<p>Cats: Ribs not palpable under heavy fat cover; heavy fat deposits over lumbar area, face and limbs; distention of abdomen with no waist; extensive abdominal fat pad.</p> 	
		<p>Dogs: Ribs palpable without excess fat covering. Waist observed behind ribs when viewed from above. Abdomen tucked up when viewed.</p> 					
3/5	5/9	<p>Cats: Well proportioned; waist observed behind ribs; ribs palpable with slight fat covering; abdominal fat pad minimal.</p> 					



7.2 Raccolta delle informazioni nutrizionali

Ai proprietari, previa compilazione di un consenso informato, è stato chiesto di rispondere ad un questionario inerente le abitudini alimentari del proprio cane, fornendo informazioni sul tipo di dieta, casalinga o commerciale, secca o umida, sulla quantità di alimento somministrata al giorno e sul numero di pasti. Inoltre, venivano chieste informazioni sull'eventuale somministrazione di alimenti extra-pasto e sulla presenza di allergie o intolleranze alimentari (Figura 2).

7.3 Anamnesi ed esame clinico

All'anamnesi, ai proprietari sono state poste domande riguardo eventuali sintomi collegati alla condizione di obesità del proprio cane, tra cui difficoltà locomotorie o respiratorie, irritabilità e sonnolenza. Su tutti i soggetti è stato effettuato un accurato esame clinico con compilazione di una scheda clinica completa (Figura 2) Gli animali venivano sottoposti anche alla determinazione del peso corporeo, espresso in chilogrammi.

Figura 2. Scheda clinica utilizzata per la raccolta dei dati.

	UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI NAPOLI FEDERICO II DIPARTIMENTO DI MEDICINA VETERINARIA E PRODUZIONI ANIMALI	N°
		Data

PROPRIETARIO

Nome e Cognome	
Residenza/Indirizzo	
Telefono	
Email	

CANE

Nome	
Sesso	
Razza	
Età	
Microchip	
Sterilizzato/a?	
Se sì, a che età?	

SCHEDA ANAMNESTICA

Ha avuto cuccioli?	
Quante volte ha partorito?	
Ultimo calore	
Malattie recenti	
Patologie croniche	
Ulteriori annotazioni	

ALIMENTAZIONE DEL CANE

Tipologia di alimento somministrato	
Numero giornaliero di pasti	
A volte cucina/cucinate per il cane?	
Utilizzo di premi alimentari	

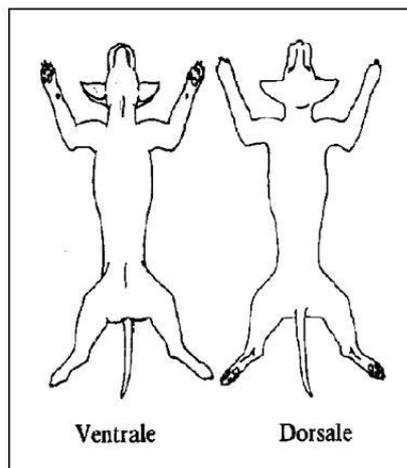
Spuntini fuori pasto	
Elemosina a tavola	
Prende cibo dalla cucina o da sopra il tavolo?	

SEGNII DI OBESITÀ

Peso Kg	
BCS (1/5) (vedi scheda BCS score)	
Muscle condition score	
Perdita definizione girovita	
Necessità di allentare il collare	
Difficoltà di camminare	
Lentezza dei movimenti	
Affanno	
Irritabilità	
Spiccata sonnolenza	

LESIONI DERMATOLOGICHE (SE PRESENTI)

Qualità del mantello <input type="checkbox"/> Lucido <input type="checkbox"/> Facilmente asportabile <input type="checkbox"/> Alopecia totale <input type="checkbox"/> Alopecia parziale <input type="checkbox"/> Opaco <input type="checkbox"/> Normale <input type="checkbox"/> Seborrea secca <input type="checkbox"/> Oleoso <input type="checkbox"/> Secco <input type="checkbox"/> Aumento peli secondari <input type="checkbox"/> Seborrea oleosa	
Parassiti visibili <input type="checkbox"/> Pulci <input type="checkbox"/> Demodex <input type="checkbox"/> Notoedres <input type="checkbox"/> Trombicula <input type="checkbox"/> Zecche <input type="checkbox"/> Pidocchi <input type="checkbox"/> Sarcoptes <input type="checkbox"/> Cheyletiella <input type="checkbox"/> Otodectes	
Lesioni primarie <input type="checkbox"/> Eritema <input type="checkbox"/> Placca <input type="checkbox"/> Papula <input type="checkbox"/> Nodulo <input type="checkbox"/> Macchia <input type="checkbox"/> Macula <input type="checkbox"/> Vescicola <input type="checkbox"/> Pustola <input type="checkbox"/> Pnfio <input type="checkbox"/> Bolla	
Lesioni secondarie <input type="checkbox"/> Forfora <input type="checkbox"/> Cisti <input type="checkbox"/> Iperpigmentazione <input type="checkbox"/> Cicatrice <input type="checkbox"/> Escoriazione <input type="checkbox"/> Ispessimento cutaneo <input type="checkbox"/> Ipopigmentazione <input type="checkbox"/> Fessura <input type="checkbox"/> Crosta <input type="checkbox"/> Alopecia parziale <input type="checkbox"/> Ascesso <input type="checkbox"/> Collaretto epid. <input type="checkbox"/> Ulcera <input type="checkbox"/> Alopecia totale <input type="checkbox"/> Comedone <input type="checkbox"/> Erosione	



Prurito si no

intensità 1 2 3 4

Sede prurito _____

7.4 Indagini emato-biochimiche

Da ogni cane, dopo adeguata tricotomia e disinfezione dalla zona, sono stati ottenuti 10 ml di sangue periferico tramite prelievo dalla vena giugulare. Il sangue prelevato è stato diviso in una provetta per EDTA (provetta Vacutainer con K3EDTA, Deltachemie Biotechnology, Napoli) e in una provetta per siero con gel separatore. Ogni provetta è stata identificata indicando il codice univoco assegnato al cane esaminato.

Ogni campione di sangue in EDTA, dopo lenta e costante miscelazione per 20 minuti, è stato utilizzato per effettuare l'esame emocromocitometrico.

Le provette di sangue con il gel separatore, dopo un tempo di attesa di almeno 20 minuti a temperatura ambiente, sono state sottoposte a centrifugazione ad una velocità di 3000 rpm per 10 minuti. Dopo centrifugazione il siero ottenuto è stato separato in due differenti aliquote, ognuna opportunamente identificata con il numero del cane esaminato, il tipo di campione (siero) ed il giorno e mese di prelievo, e successivamente stoccato in congelatore a -20 °C fino all'esecuzione degli ulteriori esami. In tutti i soggetti è stato effettuato esame emocromocitometrico completo (SEAC Heco vet 5) e un panel ematochimico, comprendente il dosaggio di glucosio, creatinina, azotemia, trigliceridi totali, colesterolo totale, ALT, ALP, bilirubina totale e proteine totali. Le analisi biochimiche sono state condotte mediante spettrofotometro (Multianalyzer SABA 18, AMS) ed effettuate sul siero stoccato.

7.5 Indagini strumentali

7.5.1 Misurazione della pressione arteriosa

La pressione arteriosa sistemica (diastolica-PAD, sistolica-PAS e media-PAM) è stata misurata attraverso un metodo non invasivo oscillometrico (Brown et al., 2007), utilizzando un apparecchio automatico (VETHDO, S+B Medie Systeme) e adeguando la misura dei bracciali a seconda del soggetto. La misurazione veniva ottenuta attraverso il posizionamento del manicotto a livello dell'arteria radiale o della coda, si registravano 5 misurazioni pressorie consecutive e, scartati il valore più alto e quello più basso, si calcolava la media sulle tre misure rimanenti.

7.5.2 Esame elettrocardiografico

Su ogni soggetto è stato eseguito un ECG standard a 6 derivazioni (I-II-III, aVR, aVL, aVF), utilizzando un elettrocardiografo portatile (08 SD, BTL ITALIA). Attraverso questo esame di norma si misura l'attività elettrica del cuore, che consiste in potenziali elettrici positivi e negativi che vengono registrati da 4 elettrodi posizionati sul corpo e che provocano una deflessione della penna scrivente sul nastro di carta in direzioni opposte. Il suo campo di azione ideale è lo studio delle aritmie cardiache e dei disturbi della conduzione. Viene inoltre impiegato, come sistema diagnostico per l'identificazione degli aumenti di dimensione delle camere cardiache.

I pazienti sono stati posizionati in decubito laterale destro. La registrazione dell'elettrocardiogramma è stata effettuata con gli arti dell'animale mantenuti perpendicolari al corpo e ciascun paio di arti è stato mantenuto parallelo da un operatore.

L'elettrocardiogramma è stato effettuato mediante l'utilizzo di elettrodi a coccodrillo di metallo applicati sui quattro arti a livello delle articolazioni del gomito e del ginocchio cercando un'area povera di pelo e con spessore cutaneo ridotto (per evitare il tessuto calloso) applicando una generosa quantità di gel o alcool prima di posizionare le pinzette:

- l'elettrodo di colore rosso applicato all'arto anteriore destro
- l'elettrodo di colore giallo applicato all'arto anteriore sinistro
- l'elettrodo di colore verde applicato all'arto posteriore sinistro
- l'elettrodo di colore nero applicato all'arto posteriore destro

7.5.3 Esame ecocardiografico

È stato altresì condotto, da un unico operatore, un esame ecocardiografico completo con l'animale posto in decubito laterale, utilizzando un apposito tavolo da ecocardiografia provvisto di incavo laterale. A seconda della taglia del soggetto, veniva utilizzata una sonda phased-array per adulti con frequenza di 2.5-5 Mhz ed una sonda phased-array pediatrica con frequenza di 7.5-10 M (MyLab Alpha, Esaote).

Le misurazioni in formato M-mode, B-mode ed eco Doppler venivano ottenute secondo le comuni metodiche descritte in letteratura (Boon, 2011). Tutti i parametri ecocardiografici erano espressi come media di tre valori ottenuti su cicli cardiaci differenti.

Misurazioni in M-mode

- Diametro interno del ventricolo sinistro in diastole (DdVS) (mm)
- Diametro interno del ventricolo sinistro in sistole (DsVS) (mm)
- Spessore del setto interventricolare in diastole (SIVd) (mm)
- Spessore del setto interventricolare in sistole (SIVs) (mm)
- Spessore della parete libera posteriore in diastole (PPd) (mm)
- Spessore della parete libera posteriore in sistole (PPs) (mm)
- Frazione d'ispessimento del setto interventricolare (FI-SIV) (%)
- Frazione d'ispessimento della parete libera posteriore (FI-PP) (%)

Parametri di funzionalità sistolica e di sovraccarico del ventricolo sinistro.

- Frazione di accorciamento (FA) (%)
- Frazione di eiezione (FE) (%)

Sono stati calcolati inoltre il volume telediastolico (EDV) ed il volume telesistolico del ventricolo sinistro (ESV) utilizzando la seguente formula di Teicholz: $EDV = (DdVS^3 \times 7) / (DdVS + 2.4)$ e $ESV = (DsVS^3 \times 7) / (DsVS + 2.4)$ (Teicholz et al., 1976). I valori ottenuti sono stati, successivamente, indicizzati per l'area di superficie corporea, ottenendo, rispettivamente l'indice di volume telesistolico (ESV-I) (ml/m²) e l'indice di volume telediastolico (EDV-I) (ml/m²), al fine di eliminare le differenze di peso. Inoltre, il diametro telediastolico e telesistolico del ventricolo sinistro, nonché gli spessori diastolici del setto interventricolare e della parete libera del ventricolo sinistro sono stati indicizzati attraverso l'equazione allometrica di Cornell (Cornell et al., 2004), al fine di eliminare le differenze di peso (DdVS-C; DsVS-C; SIVd-C; PPd-C).

Gli spessori diastolici del setto interventricolare e della parete libera del ventricolo sinistro sono stati divisi per il diametro diastolico del ventricolo sinistro, al fine di ottenere dei rapporti indicativi di ipertrofia concentrica (SIVd/DdVS; PPd/DdVS).

Misurazioni in B-mode

In formato B-mode veniva calcolato il rapporto tra le misurazioni lineari dell'atrio sn e dell'aorta (LA/AO), misurati dalla scansione parasternale dx in asse corto alla base cardiaca, nonché la frazione d'eiezione calcolata con il metodo area-lunghezza.

Misurazioni eco-Doppler

Attraverso la metodica eco-Doppler (PW e CW) venivano misurati i seguenti parametri:

- Velocità di picco della polmonare con relativo gradiente pressorio (AO Vmax) (m/sec)
- Velocità di picco dell'aorta con relativo gradiente pressorio (PA Vmax) (m/sec)
- Velocità dell'onda A del flusso transmitralico (A) (cm/sec)
- Velocità dell'onda E del flusso transmitralico (E) (cm/sec)
- Tempo di decelerazione dell'onda E (TDE) (m/sec)
- Tempo di rilasciamento isovolumetrico (IVRT)

Infine, veniva valutato il pattern di flusso transmitralico attraverso il rapporto tra la velocità dell'onda E e dell'onda A (E/A) (Tabella 1).

Tabella 1. Parametri ecocardiografici considerati nello studio

FCM	frequenza cardiaca media (bpm)
PAS	pressione arteriosa sistolica (mmHg)
PAD	pressione arteriosa diastolica (mmHg)
PAM	pressione arteriosa media (mmHg)
ECG - AEM	asse elettrico medio
AR	aritmia respiratoria
WP	wandering pacemaker
AO - B mode	dimensioni aorta base cardiaca in mm
ASN - B mode	dimensioni atrio sn base cardiaca in mm
DdVs	dimensioni diastoliche ventricolo sn in mm in M-mode
DsVS	dimensioni sistoliche ventricolo sn in mm in M-mode
SIVd	spessore diastolico setto interventricolare in mm in M-mode
SIVs	spessore sistolico del setto interventricolare in mm in M-mode
PPd	spessore diastolico della parete del ventricolo sn in mm in M-mode
PPs	spessore sistolico della parete del ventricolo sn in mm in M-mode
SIV-%	frazione d'ispessimento del setto interventricolare in %: $IVSs - IVSd / IVSd \times 100$
PP-%	frazione d'ispessimento della parete del ventricolo sn in %: $LVPWs - LVPWd / LVPWd \times 100$
FS	frazione d'accorciamento in % in M-mode: $LVDd - LVDs / LVDd \times 100$
FE	frazione d'eiezione in % in M-mode: $EDV - EDS / EDV \times 100$
EDV	volume diastolico in ml in M-mode
ESV	volume sistolico in ml in M-mode
EDV-I	indice di sovraccarico volumetrico in ml/m ² : EDV / SC (superficie corporea in m ²)
ESV-I	indice sistolico in ml/m ² : EDS / SC (superficie corporea in m ²)
AO-PV	velocità di picco dell'aorta in m/sec
PG-AO	gradiente pressorio di picco dell'aorta in mmHg
PO-PV	velocità di picco della polmonare in m/sec
PG-PO	gradiente pressorio di picco della polmonare in mmHg
IAP	ipertensione arteriosa polmonare
RM	rigurgito mitralico
RT	rigurgito tricuspide
Onda E	velocità onda E flusso transmitralico in m/sec
Onda A	velocità onda A flusso transmitralico in m/sec
FE - B mode	frazione di eiezione calcolata in B mode (metodo area-lunghezza) in %

7.6 *Trattamento dietetico con carne di bufalo (Gruppo Studio)*

Ai 9 soggetti del gruppo studio (gruppo S) è stata prescritta una dieta personalizzata a base di carne di bufalo, da somministrare per un periodo di 3 mesi. I fabbisogni dei cani sono stati calcolati secondo le indicazioni del National Research Council (2006), in base al peso, BCS, età genere e tipo di attività cui ogni cane è stato sottoposto.

Dato che i cani erano tutti in sovrappeso, si è provveduto a stimare di ognuno il peso target e a effettuare una restrizione calorica media del 25% del fabbisogno.

La dieta è stata formulata per garantire un apporto calorico pari a 165 kcal di energia metabolizzabile /100 g, rappresentato principalmente da carboidrati (53%) e proteine (30%), mentre l'apporto calorico da lipidi è stato limitato in modo da soddisfare da garantire il raggiungimento della sazietà. In tabella vengono riportati gli ingredienti e gli apporti nutritivi garantiti dalla formula (Tabella 2).

Tabella 2 – Caratteristiche della dieta impiegata

Ingredienti	%
Carne bufalina	43
Pasta	25
Crusca	10
Carote	6
Zucchine	6
Mela	8
Olio di semi mais	2

Principi nutritivi	% t.q.
Estratto etereo	3,23
Cellulosa grezza	1,54
Ceneri	1,51
Estrattivi inazotati	25,15
Protidi grezzi	13,89

La dieta così formulata oltre a soddisfare i fabbisogni in macronutrienti è sembrata in grado di garantire i corretti apporti nei principali micronutrienti (vitamine A ed E, acido arachidonico e acido linoleico, aminoacidi essenziali), tuttavia risultava sbilanciata per apporti in calcio e fosforo, per cui è stato necessario integrarla con uno specifico integratore di calcio in ragione di una

compressa/10kg di peso vivo/d, al fine di soddisfare tutti i fabbisogni nutritivi di un cane adulto (Fediaf, 2018).

Tabella 3 - Percentuali dei principi nutritivi sulla sostanza secca.

	Apporti nutritivi nella dieta (/100g SS)	minimi consigliati (/100g SS)*
SS	54	
P g	30,64	18
E I	55,49	
L G	7,13	5,5
F G	3,39	
C	3,35	
Calcio	0,28	0,5
Fosforo	0,34	0,4
Vit A UI	527	606
Vit E UI	4,28	3,75
Vit D UI	55	55,2
Acido linoleico (g)	3,27	1,32
Acido arachidonico (g)	0,05	

7.7 Analisi statistica

I dati ottenuti dal presente studio sono stati elaborati utilizzando MEDCalc Software, Frank Shoonjans V.7.2.1.0. I risultati sono stati espressi come media \pm deviazione standard (DS), mentre il confronto tra il gruppo studio e il gruppo controllo, sia a tempo 0 che a tempo 1, è stato effettuato utilizzando One Way ANOVA come test e il test di Tuckey come post-test; sono stati considerati statisticamente significativi i valori di $P < 0,05$.

8. Risultati

Il gruppo Studio era costituito da sole femmine (7 sterilizzate e 2 intere) e comprendeva 5 meticci e 4 cani di razza Shih Tzu. L'età media era di $9,56 \pm 3,97$ anni (min. 3 – max. 15) e il peso medio era di $10,12 \pm 6,01$ Kg (min. 4,2 - max. 22,8). Il gruppo Controllo era composto da 4 femmine sterilizzate e 4 maschi interi, 7 meticci ed un carlino. La loro età media era di 7,25 anni (min. 3 – max. 11) ed il peso medio era di 9,62 Kg (min. 6 – max. 19,9) (Tabella 3).

Tabella 3. Segnalamento dei cani appartenenti ai due gruppi (gruppo S e gruppo C)

Gruppo Studio				Gruppo Controllo			
Cane	Razza	Età	Sesso	Cane	Razza	Età	Sesso
S1	Shitzu	12 anni	FS	C1	Meticcio	8 aa	FS
S2	Shitzu	12 anni	F	C2	Meticcio	8 aa	FS
S3	Meticcio	15 anni	FS	C3	Meticcio	7 aa	FS
S4	Shitzu	12 anni	FS	C4	Meticcio	6 aa	M
S5	Meticcio	8 anni	FS	C5	Meticcio	3 aa	M
S6	Meticcio	3 anni	FS	C6	Carlino	10 aa	M
S7	Meticcio	4 anni	F	C7	Meticcio	5 aa	M
S8	Meticcio	12 anni	FS	C8	Meticcio	11 aa	FS
S9	Meticcio	9 anni	FS	C9	Meticcio	8 aa	FS

GRUPPO STUDIO:

Tempo 0. Anamnesi e visita clinica.

Alla prima visita di controllo (Tempo 0) i 9 cani attribuiti al gruppo S presentavano un BCS pari o superiore a 4. In particolare, a tre soggetti veniva attribuito punteggio 5, a due soggetti punteggio 4,5 e ai rimanenti quattro soggetti punteggio 4. Tutti i soggetti al momento dell'arruolamento erano sottoposti a dieta mista (commerciale e casalinga) che veniva somministrata almeno 2 volte al giorno accompagnata da pasti extra (Tabella 4). Molti soggetti presentavano perdita del girovita e necessità di allentare il collare nel tempo, oltre ad affaticabilità, affanno ed intolleranza all'esercizio. I soggetti S1 ed S2 presentavano lesioni dermatologiche, in particolare, il primo sul dorso, il secondo sugli arti anteriori; entrambi i soggetti manifestavano prurito di intensità variabile (Tabella 5).

Tabella 4/a Gruppo Studio: status nutrizionale, abitudini dietetiche e segni di obesità a Tempo 0

Cane	Segni di obesità			Dieta ed abitudini alimentari						
	Peso	BCS (1/5)	MCS	Tipologia	N pasti	Pasto casalingo	Premi alimentari	Fuoripasto	Richiesta di cibo da tavola	Sottrazione di cibo
S1	7,52	4	Normal	Medicato	3	NO	NO	NO	SI	NO
S2	7,63	4	Moderate	Medicato	3	NO	NO	NO	SI	NO
S3	8,55	4,5	Normal	Mantenimento	2	NO	NO	NO	SI	NO
S4	7,55	4	Normal	Misto (commerciale casalinga)	3	SI	NO	NO	SI	NO
S5	17,6	5	Normal	Misto (commerciale casalinga)	2	SI	SI	SI	SI	SI
S6	22,8	5	Normal	Misto (commerciale casalinga)	2	SI	SI	SI	SI	SI
S7	9	4	Normal	Misto (commerciale casalinga)	2	SI	SI	SI	SI	NO
S8	6,3	5	Normal	Misto (commerciale casalinga)	2	SI	SI	SI	SI	SI
S9	4,2	4,5	Normal	Misto (commerciale casalinga)	2	SI	SI	SI	SI	-

Tabella 4/b Gruppo Studio: status nutrizionale, abitudini dietetiche e segni di obesità a Tempo 0

Segni di obesità Gruppo Studio T0							
Cane	Perdita definizione girovita	Necessità di allentare il collare	Difficoltà deambulazione	Lentezza nei movimenti	Affanno	Irritabilità	Sonnolenza
S1	NO	SI	SI	SI	NO	NO	SI
S2	NO	SI	SI	SI	SI	NO	NO
S3	SI	SI	SI	SI	SI	NO	SI
S4	SI	SI	NO	NO	SI	NO	NO
S5	SI	SI	NO	NO	SI	NO	NO
S6	SI	SI	NO	NO	NO	NO	NO
S7	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
S8	SI	SI	NO	NO	NO	NO	NO
S9	SI	SI	NO	NO	SI	NO	NO

Tabella 5. Gruppo Studio: segni clinici dermatologici a Tempo 0

Cane	Lesioni cutanee						
	Qualità mantello	Parassiti visibili	Lesioni primarie	Lesioni secondarie	Prurito	Sede prurito	Intensità (1/4)
S1	normale	NO	SI	nessuna	SI	dorso	1
S2	normale	NO	SI	nessuna	SI	arti anteriori	2
S3	normale	NO	Nessuna	nessuna	NO	NO	NO
S4	normale	NO	Nessuna	nessuna	NO	NO	NO
S5	normale	NO	Nessuna	nessuna	NO	NO	NO
S6	normale	NO	Nessuna	nessuna	NO	NO	NO
S7	normale	NO	Nessuna	nessuna	NO	NO	NO
S8	normale	NO	Nessuna	cicatrice	NO	NO	NO
S9	normale	NO	Nessuna	nessuna	NO	NO	NO

Tempo 0. Analisi emato-biochimiche

Le analisi emato-biochimiche eseguite a tempo zero hanno evidenziato alterazione dei parametri epatici e del metabolismo lipidico in 5 soggetti (Tabella 6).

Tabella 6. Gruppo Studio: parametri ematobiochimici a tempo 0

cane	RBC (M/ μ l)	Hct (%)	WBC (K/ μ l)	PLT (K/ μ l)	Bilirub tot (mg/dL)	Crea (mg/dL)	Azo (mg/dL)	Colest (mg/dL)	PT (g/dL)	ALT (UI/L)	ALP (UI/L)	Triglic (mg/dL)
S1	6,3	42,5	8,9	65	nd	0,66	29	249	6,8	85	372	130
S2	6,74	46	7,2	64	nd	0,59	22	212	7	60	1342	101
S3	7,35	50,2	17,5	159	nd	0,6	35	232	8	177	212	283
S4	7,41	45,5	16,1	707	nd	0,54	24	204	7,2	42	240	573
S5	6,47	45,5	11	332	nd	1,03	41	200	9	46	86	512
S6	7,05	46,4	10,04	437	nd	0,87	46	176	7,8	32	nd	272
S7	7,39	49,36	13,95	116	0,3	1,23	35	187	6,9	29	92	86
S8	5,46	39,73	17,51	930	0,24	0,88	37	205	5,9	56	301	101
S9	8,38	56,11	9,93	378	0,32	0,52	32	251	6,7	40	24	61

Tempo 0. Visita cardiologica, esame elettrocardiografico ed ecocardio

Al T0 alla visita cardiologica in 2 animali veniva riscontrato un soffio sistolico mitralico senza irradiazione sul torace. All'esame elettrocardiografico tutti gli animali mostravano ritmo sinusale, asse elettrico medio nel quadrante. L'aritmia respiratoria era presente in 7 cani su 9. In un solo soggetto erano presenti microinfarti intramurali. All'esame ecocardiografico effettuato sui pazienti con soffio sistolico, veniva evidenziata una insufficienza mitralica di grado lieve ed emodinamicamente non significativa. Il rapporto Atrio sn/ao risultava essere nella norma, e non si evidenziavano ingrandimenti camerati e modificazioni morfologiche degne di nota. In nessun soggetto veniva rilevata all'ecocardiografia una condizione di ipertensione arteriosa polmonare (Tabelle 7 a, 7 b, 7 c).

Tabella 7a. Gruppo Studio: visita cardiologica ed elettrocardiogramma a tempo 0.

Cane	Visita Cardiologica	AEM (°)	AR	WP	FCM (bpm)	Ingrandimenti Camerati	ECG	Aritmie
S1	nella norma	50	presente	presente	140	no	ecg nella norma, lieve tachicardia sinusale	no
S2	nella norma	60	presente	presente	140	no	presenza di microinfarti intramurali, lieve bradicardia sinusale	no
S3	nella norma	70	presente e marcata	presente	80	si	bradicardia sinusale, associata ad arresti sinusali ricorrenti, segni di impegno del ventricolo sinistro	no
S4	nella norma	60	presente	presente	100	no	ecg nella norma	no
S5	nella norma	76	presente	presente	130	no	ecg nella norma, si evidenziano blocchi seno-atriali sporadici, presenza di una singola extra sistole atriale	no
S6	nella norma	60	presente	presente	140	no	ecg nella norma, lieve tachicardia sinusale	no
S7	nella norma	50	assente	assente	150	no	tachicardia sinusale, segni di impegno del setto interventricolare	no
S8	nella norma	70	presente ma lieve	assente	140	no	lieve tachicardia sinusale, presenza di blocchi seno-atriali occasionali	no
S9	nella norma	0	assente	assente	210	si	segni di impegno dell'atrio di destra, tachicardia sinusale	no

Tabella 7b. Gruppo Studio: Parametri ecocardiografici a tempo 0.

Cane	AO-B mode (mm)	ASN - B mode (mm)	Rapporto ASN/AO	FS (%)	FE (%)	EDV (ml)	ESV (ml)	EDV-I (ml/m2)	ESV-I (ml/m2)	DdVs – Cornell	DsVS – Cornell	SIVd Cornell	PPd Cornell	FE- B mode (%)
S1	12,1	18,7	1,54	50	83	27,76	4,87	71,7	12,6	1,5	0,7	0,5	0,52	78
S2	11,5	17,7	1,54	40	72	22,1	6,16	56,6	15,8	1,4	0,8	0,4	0,4	63
S3	15,3	22,5	1,47	44	77	27,26	6,38	64,3	15	1,4	0,8	0,58	0,47	64
S4	11,4	17,5	1,54	40	73	17,73	4,87	45,4	12,5	1,3	0,7	0,61	0,51	61
S5	16,3	22,1	1,36	41	74	27,76	7,17	40,6	10,5	1,2	0,6	0,51	0,4	67
S6	22,6	26,1	1,6	33	61	75,95	29,29	93,5	36,1	1,7	1	0,49	0,48	70
S7	15,2	20,3	1,33	53	86	17,53	2,41	40,1	5,5	1,2	0,5	0,44	0,4	80
S8	15,4	21,3	1,38	50	84	5,64	0,9	1,64	2,6	0,8	0,4	0,48	0,53	88
S9	15	15	1	39	72	20,37	5,64	77,5	21,5	1,6	0,9	0,54	0,4	86

Tabella 7c. Gruppo Studio: parametri ecocardiografici a tempo 0.

Cane	Onda E (m/sec)	Onda A (m/sec)	Rapporto E/A	Pattern Transmitralico	Fibrosi Miocardio	RM	RT	IAP
S1	0,99	0,78	1,27	Normale	moderata	si	no	no
S2	0,57	0,76	0,74	Normale	moderata	no	no	no
S3	nd	nd	nd	Normale	moderata	si	no	no
S4	0,82	0,47	1,73	Normale	moderata	si	no	no
S5	0,78	0,69	1,13	Normale	lieve	no	no	no
S6	0,59	0,45	1,3	Normale	assente	assente	assente	no
S7	0,73	0,56	1,3	Normale	lieve	no	no	no
S8	0,91	0,85	1,06	alterato rilassamento	lieve	no	no	no
S9	0,74	0,74	1	Nd	lieve	presente	assente	no

Tempo 1. Anamnesi e visita clinica. ed analisi ematobiochimiche

La visita clinica dei cani appartenenti al gruppo studio ed eseguita al termine dei 3 mesi di trattamento dietetico ha evidenziato la riduzione del BCS in tutti i soggetti; si è passati da uno score medio di 4,44 a 3,33 in T1, accompagnato da una riduzione delle misure del girovita e del

collo, dell'affanno e delle difficoltà di movimento. Per quanto riguarda le lesioni dermatologiche non ci sono state variazioni di rilievo dopo l'assunzione della dieta (Tabelle 8 e 9).

Tabella 8/a Gruppo Studio: status nutrizionale, abitudini dietetiche e segni di obesità a Tempo 1

Cane	Segni di obesità			Dieta ed abitudini alimentari						
	Peso	BCS (1/5)	MCS	Tipologia	N pasti	Pasto casalingo	Premi alimentari	Fuoripasto	Richiesta di cibo da tavola	Sottrazione di cibo
S1	7,3	3,5	NORMAL	Dieta studio	2	S	NO	NO	SI	NO
S2	7	3,5	NORMAL	Dieta studio	2	S	NO	NO	SI	NO
S3	7,8	3,5	NORMAL	Dieta studio	2	S	NO	NO	SI	NO
S4	7	3,5	NORMAL	Dieta studio	2	S	NO	NO	SI	NO
S5	14	3	NORMAL	Dieta studio	2	S	NO	NO	SI	NO
S6	20,9	4	NORMAL	Dieta studio	2	S	NO	NO	SI	NO
S7	8,5	3	NORMAL	Dieta studio	1	S	NO	NO	SI	NO
S8	5,6	3	NORMAL	Dieta studio	1	S	NO	NO	SI	NO
S9	3,7	3	NORMAL	Dieta studio	1	S	NO	NO	SI	NO

Tabella 8/b Gruppo Studio: status nutrizionale, abitudini dietetiche e segni di obesità a Tempo 1

Segni di obesità Gruppo Studio T1							
Cane	Perdita definizione girovita	Necessità di allentare il collare	Difficoltà deambulazione	Lentezza nei movimenti	Affanno	Irritabilità	Sonnolenza
S1	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
S2	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
S3	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI
S4	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
S5	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
S6	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
S7	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
S8	SI	NO	NO	NO	NO	NO	NO
S9	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO

Tabella 9. Gruppo Studio: segni clinici dermatologici a Tempo 1

Lesioni cutanee							
Cane	Qualità mantello	Parassiti visibili	Lesioni primarie	Lesioni secondarie	Prurito	Sede prurito	Intensità (1/4)
S1	normale	NO	SI	nessuna	NO	NO	NO
S2	normale	NO	SI	nessuna	SI	arti anteriori	1
S3	normale	NO	Nessuna	nessuna	NO	NO	NO
S4	normale	NO	Nessuna	nessuna	NO	NO	NO
S5	normale	NO	Nessuna	nessuna	NO	NO	NO
S6	normale	NO	Nessuna	nessuna	NO	NO	NO
S7	normale	NO	Nessuna	nessuna	NO	NO	NO
S8	normale	NO	Nessuna	cicatrice	NO	NO	NO
S9	normale	NO	Nessuna	nessuna	NO	NO	NO

Tempo 1. Analisi emato-biochimiche

Le analisi di laboratorio eseguite in T1 hanno evidenziato un miglioramento dei valori di colesterolo, trigliceridi, fosfatasi alcalina e degli enzimi epatici nella maggior parte dei soggetti (Tabella 10).

Tabella 10. Gruppo Studio: parametri ematobiochimici a tempo 1

cane	RBC (M/ μ l)	Hct (%)	WBC (K/ μ l)	PLT (K/ μ l)	Bilirub tot (mg/dL)	Crea (mg/dL)	Azo (mg/dL)	Coolest (mg/dL)	PT (g/dL)	ALT (UI/L)	ALP (UI/L)	Triglic (mg/dL)
S1	6,3	42,99	15	243	0,1	0,83	38	220	7,8	102	515	76
S2	6,32	42,78	12,11	435	0,11	0,82	27	184	7	56	10,89	93
S3	6,38	42,64	12,9	nd	0,1	0,77	30	171	7,5	58	109	121
S4	7,23	42,13	12,49	464	0,12	0,6	37	176	7,3	44	674	118
S5	6,89	43,28	10,07	347	0,2	0,86	38	133	6,7	30	98	58
S6	5,81	38,58	6,54	14	0,1	1,08	38	150	6,6	30	30	32
S7	7,13	49,54	4,86	178	0,21	1,43	43	234	7	29	107	78
S8	5,51	39,77	11,72	865	0,11	1,24	44	315	7	45	307	204
S9	7,84	53,38	6,17	275	0,13	0,55	40	254	7,2	36	47	37

Tempo 1. Visita cardiologica, esame elettrocardiografico ed ecocardio

Dopo tre mesi, sia l'esame particolare dell'apparato cardiocircolatorio che l'esame elettrocardiografico non hanno mostrato alterazioni significative e degne di nota. Alla visita cardiologica dei soggetti S1 ed S4 veniva riscontrato un soffio mitralico senza irradiazione sul torace. All'esame elettrocardiografico tutti gli animali mostravano ritmo sinusale, asse elettrico medio nel quadrante. L'esame ecocardiografico effettuato su S1 e S4 non ha mostrato modificazioni rispetto all'esame precedente così come il resto dei soggetti (Tabelle 11 a, 11b e 11c).

Tabella 11a. Gruppo Studio: visita cardiologica ed elettrocardiogramma a tempo1

Cane	Visita Cardiologica	AEM (°)	AR	WP	FCM (bpm)	Ingrandimenti Camerali	ECG	Aritmie
S1	nella norma	50	presente	presente	140	no	ecg nella norma, lieve tachicardia sinusale	no
S2	nella norma	60	presente	presente	140	no	presenza di microinfarti intramurali, lieve bradicardia sinusale	no
S3	nella norma	70	presente e marcata	presente	80	si	bradicardia sinusale, associata ad arresti sinusali ricorrenti, segni di impegno del ventricolo sinistro	no
S4	nella norma	60	presente	presente	100	no	ecg nella norma	no
S5	nella norma	76	presente	presente	130	no	ecg nella norma, si evidenziano blocchi seno-atriali sporadici, presenza di una singola extra sistole atriale	no
S6	nella norma	60	presente	presente	140	no	ecg nella norma, lieve tachicardia sinusale	no
S7	nella norma	50	assente	assente	150	no	tachicardia sinusale, segni di impegno del setto interventricolare	no
S8	nella norma	70	presente ma lieve	assente	140	no	lieve tachicardia sinusale, presenza di blocchi seno-atriali occasionali	no
S9	nella norma	0	assente	assente	210	si	segni di impegno dell'atrio di destra, tachicardia sinusale	no

Tabella 11b. Gruppo Studio: parametri ecocardiografici a tempo 1

Cane	AO-B mode (mm)	ASN - B mode (mm)	Rapporto ASN/AO	FS (%)	FE (%)	EDV (ml)	ESV (ml)	EDV-I (ml/m2)	ESV-I (ml/m2)	DdVs – Cornell	DsVS – Cornell	SIVd Cornell	PPd Cornell	FE- B mode (%)
S1	12,1	18,7	1,54	50	83	27,76	4,87	71,7	12,6	1,5	0,7	0,5	0,52	78
S2	11,5	17,7	1,54	40	72	22,1	6,16	56,6	15,8	1,4	0,8	0,4	0,4	63
S3	15,3	22,5	1,47	44	77	27,26	6,38	64,3	15	1,4	0,8	0,58	0,47	64
S4	11,4	17,5	1,54	40	73	17,73	4,87	45,4	12,5	1,3	0,7	0,61	0,51	61
S5	16,3	22,1	1,36	41	74	27,76	7,17	40,6	10,5	1,2	0,6	0,51	0,4	67
S6	22,6	26,1	1,6	33	61	75,95	29,29	93,5	36,1	1,7	1	0,49	0,48	70
S7	15,2	20,3	1,33	53	86	17,53	2,41	40,1	5,5	1,2	0,5	0,44	0,4	80
S8	15,4	21,3	1,38	50	84	5,64	0,9	1,64	2,6	0,8	0,4	0,48	0,53	88
S9	15	15	1	39	72	20,37	5,64	77,5	21,5	1,6	0,9	0,54	0,4	86

Tabella 11c. Gruppo Studio: parametri ecocardiografici a tempo 1

Cane	Onda E (m/sec)	Onda A (m/sec)	Rapporto E/A	Pattern Transmitralico	Fibrosi Miocardio	RM	RT	IAP
S1	0,99	0,78	1,27	Normale	moderata	si	no	no
S2	0,57	0,76	0,74	Normale	moderata	no	no	no
S3	nd	nd	nd	Normale	moderata	si	no	no
S4	0,82	0,47	1,73	Normale	moderata	si	no	no
S5	0,78	0,69	1,13	Normale	lieve	no	no	no
S6	0,59	0,45	1,3	Normale	assente	no	No	no
S7	0,73	0,56	1,3	Normale	lieve	no	No	no
S8	0,91	0,85	1,06	alterato rilassamento	lieve	no	No	no
S9	0,74	0,74	1	Nd	lieve	no	no	no

GRUPPO CONTROLLO

Tempo 0. Anamnesi e visita clinica.

Per quanto riguarda i soggetti che facevano parte del gruppo controllo (gruppo C), il BCS attribuito era rispettivamente di punteggio 4 per 5 soggetti, punteggio 4.5 per 3 soggetti e ad un solo soggetto era stato attribuito punteggio 5. A tutti i cani del gruppo controllo, non sono state prescritte restrizioni dietetiche, ma sono state mantenute le regolari abitudini alimentari attuate dai proprietari, compresi premi e fuoripasto.

Dei cani esaminati, 6 venivano alimentati con diete miste (commerciale + casalinga), 1 soggetto veniva nutrito con una dieta esclusivamente casalinga, mentre ad un solo soggetto veniva somministrata una dieta commerciale di alta qualità. All'esame clinico in 6 animali era presente un'evidente perdita della normale definizione del girovita, in 3 era stato necessario allentare il collare, lo stesso numero presentava difficoltà nella deambulazione, movimenti rallentati e difficoltosi ed irritabilità. In un solo soggetto era presente affanno. Per quanto riguarda le dermatopatie, il cane C1 presentava piccole lesioni alopeciche da autotraumatismo a livello degli arti anteriori, in più presentava prurito a livello addominale; C6 aveva delle lesioni pruriginose e untuose a livello delle pieghe facciali (Tabelle 12 e 13).

Tabella 12/a Gruppo Studio: status nutrizionale, abitudini dietetiche e segni di obesità a Tempo 0

Cane	Segni di obesità			Dieta ed abitudini alimentari						
	Peso	BCS (1/5)	MCS	Tipologia	N pasti	Pasto casalingo	Premi alimentari	Fuoripasto	Richiesta di cibo da tavola	Sottrazione di cibo
C1	8 kg	4,5	Normal	Misto	2	Si	Si	Si	Si	No
C2	10 Kg	5	Normal	Misto	3	-	SI	SI	SI	No
C3	6 Kg	4	Normal	Misto	3	-	No	SI	SI	No
C4	9 kg	4	Normal	Misto	2	No	Si	Si	Si	No
C5	7 Kg	4	Normal	Misto	2	-	No	SI	SI	No
C6	8 kg	4,5	Normal	Casalinga	2	Si	Si	No	Si	No
C7	9,1 kg	4,5	Normal	Commerciale	3	No	Si	Si	Si	No
C8	19,9 kg	3	Normal	Mista	2	Si	No	Si	Si	Si

Tabella 12/b Gruppo Studio: status nutrizionale, abitudini dietetiche e segni di obesità a Tempo 0

Segni di obesità Gruppo Controllo T0							
cane	Perdita definizione girovita	Necessità di allentare il collare	Difficoltà deambulazione	Lentezza nei movimenti	Affanno	Irritabilità	Sonnolenza
C1	SI	SI	NO	NO	NO	SI	NO
C2	SI	SI	SI	SI	NO	SI	NO
C3	SI	NO	NO	NO	NO	NO	NO
C4	SI	NO	SI	SI	NO	NO	NO
C5	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO
C6	SI	SI	SI	SI	NO	NO	SI
C7	SI	NO	NO	NO	NO	NO	NO
C8	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO

Tabella 13. Gruppo Controllo: segni clinici dermatologici a Tempo 0

Lesioni cutanee							
Cane	Qualità mantello	Parassiti visibili	Lesioni primarie	Lesioni secondarie	Prurito	Sede prurito	Intensità (1/4)
C1	Normale	No	Zampe anteriori	Nessuna	Si	Addome craniale	2
C2	Normale	No	Nessuna	Nessuna	No	No	No
C3	Normale	No	Nessuna	Nessuna	No	No	No
C4	Normale	No	Nessuna	Nessuna	No	No	No
C5	Lucido	No	Nessuna	Nessuna	No	No	No
C6	Unto	No	Pieghe facciali	Nessuna	Si	Muso	3
C7	Normale	No	Nessuna	Nessuna	No	No	No
C8	Lucido	No	Nessuna	Cicatrice	No	No	No

Tempo 0. Analisi emato-biochimiche

Le analisi emato-biochimiche eseguite a tempo 0 hanno evidenziato alterazione dei parametri epatici e del metabolismo lipidico in 5 soggetti.

In particolare, 2 soggetti presentavano una lieve alterazione dei valori di glicemia, in 5 le ALT, in 3 le ALP, in 2 i trigliceridi, e nessuno presentava un aumento della colesterolemia (Tabella 14).

Tabella 14. Gruppo Controllo: parametri ematobiochimici a tempo 0

cane	RBC (M/ μ l)	Hct (%)	WBC (K/ μ l)	PLT (K/ μ l)	Bilirub tot (mg/dL)	Crea (mg/dL)	Azo (mg/dL)	Colest (mg/dL)	PT (g/dL)	ALT (UI/L)	ALP (UI/L)	Triglic (mg/dL)
C1	6,42	43,6	14,6	262	0,4	1,43	41	180	7	37	97	113
C2	8,03	51,1	8,5	495	0,5	1,05	56	207	6,9	57	292	231
C3	5,69	39,7	10	433	0,26	0,67	30,4	182,2	6,9	76,9	79,7	66,2
C4	8,93	36,5	8,8	229	0,31	1	20	187	6,5	73	86	63
C5	7,14	46,5	11,4	304	0,33	0,97	27	219	5,8	32	119	53
C6	6,09	37	15,4	53	nd	0,86	27	207	7,4	37	113	60
C7	7,56	48,6	10,5	185	0,42	1,11	33	205	6,8	48	51	49
C8	7,12	49,5	5,7	207	0,15	1,38	32	194	6,9	49	86	54

Tempo 0. Visita cardiologica, esame elettrocardiografico ed ecocardio

Alla visita cardiologica eseguita al tempo 0 ad un animale (C1) veniva riscontrato un soffio mitralico senza irradiazione sul torace, mentre un soggetto (C4) presentava un soffio mitralico e tricuspide con irradiazione craniale sinistra. All'esame elettrocardiografico tutti gli animali mostravano ritmo sinusale, asse elettrico medio nel quadrante. L'aritmia respiratoria era presente in 3 soggetti su 8 e non si rilevavano segni di microinfarti intramurali. Un solo soggetto (C1), presentava tachicardia sinusale mentre C4 presentava segni ipossia miocardica ed impegno destro. All'esame ecocardiografico effettuato su C1, veniva evidenziata una insufficienza mitralica di grado lieve ed emodinamicamente non significativa. Il rapporto Atrio sn/ao risultava essere lievemente aumentato, e non si evidenziavano modificazioni morfologiche degne di nota; mentre C4 presentava sia un'insufficienza della valvola mitralica che tricuspide con un lieve aumento del rapporto

Atrio sn/ao, ma senza variazioni emodinamiche. Anche in questo gruppo nessun soggetto presentava una condizione di ipertensione arteriosa polmonare (Tabelle 15 a, 15b e 15c).

Tabella 15a. Gruppo Controllo: visita cardiologica ed elettrocardiogramma a tempo 0

Cane	Visita Cardiologica	AEM (°)	AR	WP	FCM (bpm)	Ingrandimenti Camerali	ECG	Aritmie
C1	nella norma	70	presente	presente	130	presenti	tachicardia sinusale, segni di impegno del ventricolare sinistro	
C2	nella norma	50,0	assente	assente	120,0	assenti	ecg nella norma	no
C3	nella norma	60	presente	presente	120	assenti	ecg nella norma	no
C4	nella norma	60	presente	presente	140	assenti	presenti segni di ipossia miocardica ed impegno dell'atrio di destra	no
C5	nella norma	90	assente	assente	160	assenti	presente tachicardia sinusale	no
C6	nella norma	60	assente	assente	180	assenti	tachicardia sinusale, segni di impegno del setto interventricolare	
C7	nella norma	90	assente	assente	100	assenti	ecg nella norma	no
C8	nella norma	90	assente	assente	100	assenti	ecg nella norma	no

Tabella 15b. Gruppo Controllo: Parametri ecocardiografici a tempo 0

Cane	AO-B mode (mm)	ASN - B mode (mm)	Rapporto ASN/AO	FS (%)	FE (%)	EDV (ml)	ESV (ml)	EDV-I (ml/m2)	ESV-I (ml/m2)	DdVs – Cornell	DsVS – Cornell	SIVd Cornell	PPd Cornell	FE- B mode (%)
C1	14,8	16,8	1,72	48	81	23,45	4,42	46,9	8,8	1,3	0,6	0,4	0,4	83
C2	19,3	25	1,3	48	81	27,76	5,25	45,2	8,5	1,2	0,6	0,8	0,5	77
C3	13,8	18,8	1,49	32	63	16,58	6,16	42,5	15,8	1,2	0,8	0,3	0,4	77
C4	15,7	24,8	1,58	49	82	30,34	5,34	49,4	8,7	1,3	0,6	0,5	0,4	72
C5	14,2	20,8	1,59	36	68	29,29	9,44	20,1	20,1	1,4	0,9	0,4	0,5	82
C6	14,4	16,4	1,63	50	84	11,62	1,69	20,8	3	0,9	0,4	0,5	0,6	68
C7	13,7	16,3	1,47	45	78	27,02	5,95	57,6	12,7	1,4	0,7	0,5	0,4	72
C8	14,4	23,3	1,64	40	65	36,73	12,89	57,3	20,1	1,4	0,8	0,5	0,5	66

Tabella 15c. Gruppo Controllo: Parametri ecocardiografici a tempo 0

Cane	Onda E (m/sec)	Onda A (m/sec)	Rapporto E/A	Pattern Transmitralico	Fibrosi Miocardio	RM	RT	IAP
C1	0,94	0,66	1,41	Normale	Moderata	Si	No	No
C2	1,06	0,94	1,13	Normale	Assente	No	No	No
C3	0,65	0,6	1,09	Normale	Lieve	No	No	No
C4	0,92	0,84	1,1	Normale	Lieve	Si	Si	No
C5	0,74	0,63	1,18	Normale	Assente	No	No	No
C6	0,88	0,71	1,24	Normale	Moderata	No	No	No
C7	0,69	0,53	1,29	Restrittivo	Assente	No	No	No
C8	0,63	0,54	1,1	Normale	Lieve	No	No	No

Tempo 1. Anamnesi e visita clinica.

La visita clinica eseguita al termine dei 3 mesi nei cani che non hanno ricevuto alcun trattamento dietetico non ha evidenziato riduzione del BCS in nessun soggetto, nè riduzione delle misure del girovita e del collo, dell'affanno e delle difficoltà di movimento. Il soggetto C8 dopo due mesi dall'inizio dello studio è deceduto per la rottura di un emangiosarcoma splenico. Anche per i casi controllo non si sono evidenziate modificazioni per quanto riguarda le lesioni dermatologiche (C1 e C6) (Tabelle 16 e 17).

Tabella 16/a Gruppo Studio: status nutrizionale, abitudini dietetiche e segni di obesità a Tempo 1

Cane	Segni di obesità			Dieta ed abitudini alimentari						
	Peso	BCS (1/5)	MCS	Tipologia	N pasti	Pasto casalingo	Premi alimentari	Fuoripasto	Richiesta di cibo da tavola	Sottrazione di cibo
C1	8 kg	4,5	Normal	Misto	2	Si	Si	Si	Si	No
C2	10 Kg	5	Normal	Misto	3	-	Si	Si	Si	No
C3	6 Kg	4	Normal	Misto	3	-	No	Si	Si	No
C4	9 kg	4	Normal	Misto	2	No	Si	Si	Si	No
C5	7 Kg	4	Normal	Misto	2	-	No	Si	Si	No
C6	8 kg	4,5	Normal	Casalingo	2	Si	Si	No	Si	No
C7	9,1 kg	4,5	Normal	Commerciale	3	No	Si	Si	Si	No

Tabella 16/b Gruppo Studio: status nutrizionale, abitudini dietetiche e segni di obesità a Tempo 1

Segni di obesità Gruppo Controllo T1							
can e	Perdita definizione girovita	Necessità di allentare il collare	Difficoltà deambulazione	Lentezza nei movimenti	Affanno	Irritabilità	Sonnolenza
C1	S	SI	NO	NO	NO	SI	NO
C2	S	SI	SI	SI	NO	SI	NO
C3	S	NO	NO	NO	NO	NO	NO
C4	S	NO	SI	SI	NO	NO	NO
C5	N	NO	NO	NO	NO	SI	NO
C6	S	SI	SI	SI	NO	NO	SI
C7	S	NO	NO	NO	NO	NO	NO
C8	N	NO	NO	NO	NO	NO	NO

Tabella 17. Gruppo Controllo: segni clinici dermatologici a Tempo 1

Lesioni cutanee							
Cane	Qualità mantello	Parassiti visibili	Lesioni primarie	Lesioni secondarie	Prurito	Sede prurito	Intensità (1/4)
C1	Normale	No	Zampe anteriori	Nessuna	Si	Addome craniale	2
C2	Normale	No	Nessuna	Nessuna	No	No	No
C3	Normale	No	Nessuna	Nessuna	No	No	No
C4	Normale	No	Nessuna	Nessuna	No	No	No
C5	Lucido	No	Nessuna	Nessuna	No	No	No
C6	Unto	No	Pieghe facciali	Nessuna	Si	Muso	3
C7	Normale	No	Nessuna	Nessuna	No	No	No

Tempo 1. Analisi ematobiochimiche

Le analisi di laboratorio eseguite in T1 non hanno evidenziato un miglioramento, al contrario, 2 soggetti hanno presentato un aumento dei valori della colesterolemia (non alterata in nessun soggetto al momento del primo controllo), 6 soggetti presentavano un aumento dei valori dell'AST (2 soggetti in più), 5 dell'ALP (un cane in più), 2 dei trigliceridi (Tabella 18).

Tabella 18. Gruppo Controllo: parametri ematobiochimici a tempo 1

cane	RBC (M/ μ l)	Hct (%)	WBC (K/ μ l)	PLT (K/ μ l)	Bilirub tot (mg/dL)	Crea (mg/dL)	Azo (mg/dL)	Colest (mg/dL)	PT (g/dL)	ALT (UI/L)	ALP (UI/L)	Triglic (mg/dL)
C1	6,52	45,1	11,6	369	0,6	1,2	56	215	7,5	59	59	93
C2	8,72	53,7	11,6	25	0,35	1,1	20	176	7,3	58	212	58
C3	6,05	41	18	546	0,13	1	45	251	6,2	56	103	101
C4	6,09	42,6	13,1	199	0,25	1,05	43	244	5,9	52	117	44
C5	7,14	50,1	10,4	462	0,3	1,1	32	271	6,6	36	151	48
C6	5,36	33,8	12,8	487	0,3	0,9	26	178	6,7	36	114	42
C7	7,37	50,5	13,2	246	0,31	1	29	154	6,6	58	48	34

Tempo 1. Visita cardiologica, esame elettrocardiografico ed ecocardio

Dopo tre mesi, sia l'esame particolare del cardiocircolatorio che l'esame elettrocardiografico dei cani del gruppo controllo non hanno mostrato alterazioni significative e degne di nota. Anche l'esame ecocardiografico non ha mostrato variazioni morfologiche ed ingrandimenti camerati (Tabelle 19 a , 19b e 19c) .

Tabella 19a. Gruppo Controllo: visita cardiologica ed elettrocardiogramma a tempo 1

Cane	Visita Cardiologica	AEM (°)	AR	WP	FCM (bpm)	Ingrandimenti Camerati	ECG	Aritmie
C1	Nella norma	70	Presente	Presente	140	Presenti	Tachicardia sinusale, segni di impegno del ventricolare sinistro	No
C2	Nella norma	50,0	Assente	Assente	100,0	Assenti	Ecg nella norma	No
C3	Nella norma	60	Presente	Presente	100	Assenti	Ecg nella norma	No
C4	Nella norma	60	Presente	Presente	130	Assenti	Presenti segni di ipossia miocardica ed impegno dell'atrio di destra	No
C5	Nella norma	90	Assente	Assente	140	Assenti	Presente tachicardia sinusale	No
C6	Nella norma	60	Assente	Assente	170	Assenti	Tachicardia sinusale, segni di impegno del setto interventricolare	No
C7	Nella norma	90	Assente	Assente	80	Assenti	Ecg nella norma	No

Tabella 19b. Gruppo Controllo: Parametri ecocardiografici a tempo 1

Cane	AO-B mode (mm)	ASN - B mode (mm)	Rapporto ASN/AO	FS (%)	FE (%)	EDV (ml)	ESV (ml)	EDV-I (ml/m2)	ESV-I (ml/m2)	DdVs – Cornell	DsVS – Cornell	SIVd Cornell	PPd Cornell	FE- B mode (%)
C1	13,5	17,3	1,28	41	74	24,14	6,27	59,8	15,5	1,4	0,8	0,5	0,4	83
C2	19	24,6	1,29	47	80	29,55	5,95	44,3	8,9	1,2	0,6	0,7	0,5	77
C3	13,5	18,5	1,44	36	68	14,76	4,77	31,5	10,2	1,1	0,7	0,4	0,4	77
C4	14,7	23,7	1,61	38	70	35,36	10,87	58,4	17,7	1,4	0,8	0,4	0,4	78
C5	13,5	17,4	1,29	49	82	26,77	4,77	68,6	12,2	1,5	0,7	0,4	0,5	81
C6	14,5	17,2	1,19	49	84	11,02	1,84	19,7	3,3	0,9	0,4	0,5	0,6	75
C7	13,1	20,6	1,47	37	69	32,48	10	97,4	30	1,7	1	0,6	0,5	74

Tabella 19c. Gruppo Controllo: Parametri ecocardiografici a tempo 1

Cane	Onda E (m/sec)	Onda A (m/sec)	Rapporto E/A	Pattern Transmitralico	Fibrosi Miocardio	RM	RT	IAP
C1	0,86	0,64	1,35	Normale	Moderata	Si	No	No
C2	0,77	0,64	1,22	Normale	Lieve	No	No	No
C3	0,66	0,6	1,1	Normale	Lieve	No	No	No
C4	0,78	0,69	1,13	Normale	Lieve	Si	Si	No
C5	0,75	0,7	1,07	Normale	Assente	No	No	No
C6	0,83	0,64	1,28	Normale	Moderata	No	No	No
C7	0,67	0,36	1,84	Restrittivo	Assente	No	No	No

GRUPPO STUDIO-GRUPPO CONTROLLO: CONFRONTO.

Le differenze tra i due gruppi di soggetti esaminati, sia al tempo 0 che al tempo 1, sono state valutate effettuando un'analisi della varianza (One Way Anova).

Il primo test effettuato ha riguardato il confronto dei due gruppi (Controllo e Studio) a tempo 0 che non ha evidenziato differenze statistiche significative quando si è effettuato il raffronto tra il peso dei soggetti, i parametri ematobiochimici e gli indici cardiologici; ciò ha permesso di accertare che non esistessero differenze sostanziali ma che i cani appartenenti ai due gruppi fossero in uno stadio clinico analogo al momento di iniziare lo studio (Tabella 20). Gli unici valori che hanno mostrato una differenza statistica significativa sono stati quelli inerenti il numero totale di piastrine ($p < 0.0001$) e della fosfatasi alcalina ($p = 0,0132$) per quanto riguarda i parametri ematobiochimici. Anche per quanto riguarda i parametri cardiologici (esame elettrocardiografico ed ecocardiografico) non abbiamo avuto variazioni statisticamente significative confrontando i due gruppi; unica eccezione, è stata riscontrata una differenza statistica per i valori di velocità di picco aortico (AO) e polmonare (PO) ($p < 0.0001$). Tale differenza non è stata considerata significativa ai fini del presente studio, perchè si tratta di indici variabili, i cui valori possono cambiare considerevolmente quando associati allo status di agitazione del paziente.

I cani del gruppo Studio e quelli del gruppo Controllo, risultavano simili sia per i valori medi dei pesi (9.62 kg vs 10.12kg), l'età dei soggetti (7.25 vs. 9 anni), che per i segni clinici riscontrati.

Tabella 20. One Way ANOVA: confronto tra i valori ematobiochimici e gli indici cardiologici dei cani del gruppo Studio e del gruppo Controllo a Tempo 0.

Tukey's multiple comparisons test	Adjusted P Value	Tukey's multiple comparisons test	Adjusted P Value
Peso T0 vs. Peso T0 TR	>0.9999 ns	ESV-I T0 vs. ESV-1 T0 TR	>0.9999 ns
RBC T0 vs. RBC	>0.9999 ns	DdVs - Cornell T0 vs. DdVs - Cornell T0 TR	>0.9999 ns
Hct T0 vs. Hct	>0.9999 ns	DsVS - CornellT0 vs. DsVS - Cornell T0 TR	>0.9999 ns
WBC T0 vs. WBC	>0.9999 ns	SIVd - Cornell T0 vs. SIVd - Cornell T0 TR	>0.9999 ns
PLT T0 vs. PLT	<0.0001 ****	PPd - Cornell T0 vs. PPd - Cornell T0 TR	>0.9999 ns
Bilirub tot T0 vs. Bilirub tot	>0.9999 ns	FE- B mode T0 vs. FE- B mode T0 TR	>0.9999 ns
Crea T0 vs. Crea	>0.9999 ns	AO - PV T0 vs. AO - PV TR	<0.0001 ****
Azo T0 vs. Azo	>0.9999 ns	PG - AO T0 vs. PG - AO TR	>0.9999 ns
Colest T0 vs. Colest	>0.9999 ns	PO - PV T0 vs. PO - PV TR	<0.0001 ****
PT T0 vs. PT	>0.9999 ns	PG - PO T0 vs. PG - PO TR	>0.9999 ns
ALT T0 vs. ALT	>0.9999 ns	Onda E T0 vs. Onda E TR	>0.9999 ns
ALP T0 vs. ALP	0,0132 *	Onda A T0 vs. Onda A TR	>0.9999 ns
Triglic T0 vs. Triglic	0,4646 ns	Rapporto E/A T0 vs. Rapporto E/A TR	>0.9999 ns

Il confronto statistico tra il gruppo Studio al tempo 0 e a tempo 1, e tra il gruppo Controllo a tempo 0 e a tempo 1, non ha evidenziato differenze significative (Tabelle 21 a e 21b).

Tabella 11 a. Gruppo Controllo: confronto tra T0 e T1

Tukey's multiple comparisons test	Adjusted P Value	Tukey's multiple comparisons test	Adjusted P Value
RBC T0 vs. RBC	>0.9999 ns	ESV-I T0 vs. ESV-I	>0.9999 ns
Hb T0 vs. Hb	>0.9999 ns	DdVs - Cornell T0 vs. DdVs - Cornell	0,9992 ns
Hct T0 vs. Hct	>0.9999 ns	DsVS - CornellT0 vs. DsVS - Cornell	>0.9999 ns
WBC T0 vs. WBC	>0.9999 ns	SIVd - Cornell T0 vs. SIVd - Cornell	>0.9999 ns
PLT T0 vs. PLT	>0.9999 ns	PPd - Cornell T0 vs. PPd - Cornell	>0.9999 ns
Bilirub tot T0 vs. Bilirub tot	>0.9999 ns	FE- B mode T0 vs. FE- B mode	0,669 ns
Crea T0 vs. Crea	>0.9999 ns	AO - PV T0 vs. AO - PV	>0.9999 ns
Azo T0 vs. Azo	>0.9999 ns	PG - AO T0 vs. PG - AO	>0.9999 ns
Colest T0 vs. Colest	>0.9999 ns	PO - PV T0 vs. PO - PV	>0.9999 ns
PT T0 vs. PT	>0.9999 ns	PG - PO T0 vs. PG - PO	>0.9999 ns
ALP T0 vs. ALP	>0.9999 ns	Onda E T0 vs. Onda E	0,9945 ns
Triglic T0 vs. Triglic	0,9693 ns	Onda A T0 vs. Onda A	0,9794 ns
		Rapporto E/A T0 vs. Rapporto E/A	0,9989 ns

Tabella 21b. Gruppo Studio: confronto tra T0 e T1

Tukey's multiple comparisons test	Adjusted P Value	Tukey's multiple comparisons test	Adjusted P Value
Peso T0 TR vs. Peso T1	>0.9999 ns	AO - B mode vs. AO - B mode	>0.9999 ns
RBC T0 TR vs. RBC	>0.9999 ns	ASN - B mode T0 vs. ASN - B mode	>0.9999 ns
Hct T0 TR vs. Hct	>0.9999 ns	Rapp. ASN/AO T0 vs. Rapp. ASN/AO	>0.9999 ns
WBC T0 TR vs. WBC	>0.9999 ns	DdVS T0 vs. DdVS	>0.9999 ns
PLT T0 TR vs. PLT	>0.9999 ns	DsVS T0 vs. DsVS	>0.9999 ns
Bilirub tot T0 TR vs. Bilirub tot	>0.9999 ns	SIVd T0 vs. SIVd	>0.9999 ns
Crea T0 TR vs. Crea	>0.9999 ns	PPd T0 vs. PPd	>0.9999 ns
Azo T0 TR vs. Azo	>0.9999 ns	PPs T0 vs. PPs	>0.9999 ns
Colest T0 TR vs. Colest	>0.9999 ns	FS T0 vs. FS	>0.9999 ns
PT T0 TR vs. PT	>0.9999 ns	FE T0 vs. FE	>0.9999 ns
ALT T0 TR vs. ALT	>0.9999 ns	EDV T0 vs. EDV	0,9972 ns
ALP T0 TR vs. ALP	0,9624 ns	ESV T0 vs. ESV	>0.9999 ns
Triglic T0 TR vs. Triglic	0,7662 ns	FCM vs. FCM	>0.9999 ns

Infine, è stato effettuato il confronto tra i valori ematobiochimici e gli indici cardiologici dei cani del Gruppo Studio e Gruppo Controllo al termine della dieta – tempo 1 (Tabella 22). Non si sono evidenziate differenze statisticamente significative, eccezione fatta per il valore delle piastrine ($p < 0.0001$) e per la velocità del flusso aortico e per quello dell'arteria polmonare ($p < 0.0001$).

Tukey's multiple comparisons test	Adjusted P Value	Tukey's multiple comparisons test	Adjusted P Value
RBC ctr T1 vs. RBC	>0.9999 ns	ESV-I T1 CTR vs. ESV-I T1	>0.9999 ns
Hct ctr T1 vs. Hct	>0.9999 ns	DdVs - Cornell T1 CTR vs. DdVs - Cornell T1	>0.9999 ns
WBC ctr T1 vs. WBC	>0.9999 ns	DsVS - Cornell T1 CTR vs. DsVS - Cornell T1	>0.9999 ns
PLT ctr T1 vs. PLT	<0.0001 ****	SIVd - Cornell T1 CTR vs. SIVd - Cornell T1	>0.9999 ns
Bilirub tot ctr T1 vs. Bilirub tot	>0.9999 ns	PPd - Cornell T1 CTR vs. PPd - Cornell T1	>0.9999 ns
Crea ctr T1 vs. Crea	>0.9999 ns	FE- B mode T1 CTR vs. FE- B mode T1	>0.9999 ns
Azo ctr T1 vs. Azo	>0.9999 ns	PG - AO T1 CTR vs. PG - AO T1	>0.9999 ns
Glu ctr T1 vs. Glu	>0.9999 ns	PO - PV T1 CTR vs. AO - PV T1	<0.0001 ****
Colest ctr T1 vs. Colest	>0.9999 ns	PO - PV T1 CTR vs. PO - PV T1	<0.0001 ****
PT ctr T1 vs. PT	>0.9999 ns	PG - PO T1 CTR vs. PG - PO T1	>0.9999 ns
ALT ctr T1 vs. ALT	>0.9999 ns	Onda E T1 CTR vs. Onda E T1	>0.9999 ns
ALP ctr T1 vs. ALP	0,4205 ns	Onda A T0 vs. Onda A T1	>0.9999 ns
Triglic ctr T1 vs. Triglic	>0.9999 ns	Rapporto E/A T1 CTR vs. Rapporto E/A T1	>0.9999 ns

Dal punto di vista clinico, invece, i cani sottoposti al regime dietetico con carne di bufalo hanno mostrato un netto miglioramento, in particolare si è assistito a:

- una visibile riduzione del peso medio dei soggetti,
- una riduzione del valore del BCS in tutti i soggetti
- la perdita di definizione del girovita persisteva solo in un soggetto,
- minore difficoltà nella deambulazione
- minore affanno

Né all'esame dermatologico che all'esame cardiologico si sono evidenziate differenze tra i due gruppi.

9. Discussioni

L'aumento di peso negli animali da compagnia è causato da uno squilibrio tra l'apporto energetico (calorico) e l'energia (calorie) consumata ed è principalmente dovuto al consumo eccessivo di cibo unito ad una riduzione dell'attività fisica. Scorrette abitudini alimentari e comportamentali possono contribuire all'obesità con numero di pasti eccessivo e somministrati dietro richiesta dell'animale, snacks, diete ad elevato contenuto di grassi e impiego di cibo di bassa qualità. L'obesità e il sovrappeso possono comportare gravi conseguenze per la salute del cane riducendone l'aspettativa e la qualità della vita, aumentandone il rischio di gravi malattie (osteoartrite, malattie

cardiovascolari e respiratorie, diabete, complicazioni anestetiche e chirurgiche, infezioni) e forse anche tumori; oltre al peggioramento di eventuali condizioni preesistenti (malattie articolari, malattie cardiache). La perdita di peso rappresenta quindi il trattamento terapeutico fondamentale per il controllo e la prevenzione delle malattie dell'apparato locomotorio, delle malattie respiratorie e cardiovascolari. Qualsiasi riduzione del peso che faccia avvicinare il paziente al suo peso ideale comporta dei benefici per il cane. Nell'uomo l'obesità è un fattore indipendente di rischio nei confronti di una serie di disturbi cardiovascolari che vengono indicati come disfunzione cardiaca collegata all'obesità (ORCD). L'ORCD comprende disfunzione sistolica, disfunzione diastolica e disfunzione endoteliale che conducono a malattia coronarica. Inoltre, le persone obese presentano modificazioni strutturali del muscolo cardiaco con aspetti di ipertrofia ed incremento della massa miocardica ventricolare. Recentemente, l'ORCD è stata descritta come un processo patologico indipendente oppure come parte della sindrome metabolica. Nell'uomo, la sindrome metabolica, le cui alterazioni comprendono obesità, insulino-resistenza, dislipidemia e ipertensione, sembra giocare un ruolo importante nella fisiopatologia dell'ORCD. Nella specie canina le conoscenze riguardo le alterazioni cardiovascolari in corso di obesità, e l'influenza su quest'ultime di regimi dietetici specifici sono molto scarse. Tropf e colleghi (2017) in una sottopopolazione di cani obesi hanno evidenziato un aumento del rapporto tra lo spessore diastolico della parete posteriore e il diametro diastolico del ventricolo sinistro, nonché una riduzione del valore del rapporto onda E/onda A del flusso transmitralico rispetto a soggetti sani.

L'obiettivo del presente studio era quello di valutare l'impiego di una dieta basata su carne di bufalo in cani obesi, monitorandone i parametri clinici, ematobiochimici e cardiologici al fine di evidenziarne i potenziali effetti benefici. Questo perché la carne bufalina rispetto alle più comuni carni rosse impiegate, e nella fattispecie quella bovina, ha differenti caratteristiche dietetico-nutrizionali che potrebbero renderla maggiormente indicata nei soggetti con patologie legate all'obesità. La carne bufalina ha una minore quantità di lipidi totali, in particolare di colesterolo, percentuali inferiori di acidi grassi saturi e superiori di acidi grassi mono e polinsaturi, maggiori contenuti vitaminici, livelli più alti di ferro e zinco ed una migliore composizione amminoacidica delle proteine. Diversi studi in medicina umana ne hanno mostrato gli effetti benefici sulla salute dei consumatori abituali di carne bufalina (Gioradano et al 2010; McDaniel et al, 2013), ma ad oggi gli studi in campo veterinario risultano scarsi.

I soggetti esaminati nel presente studio, al termine dei tre mesi di dieta con carne bufalina non hanno evidenziato, rispetto al gruppo controllo, differenze statistiche significative dal punto di vista dei parametri ematobiochimici e cardiologici considerati, sebbene si siano riscontrati dei netti miglioramenti delle condizioni cliniche ed un calo generale del peso e dei valori di BCS.

Sicuramente, uno dei principali limiti di questo studio è stato l'impiego di un numero limitato di soggetti e l'esecuzione di un campionamento di convenienza. Questo perché individuare e selezionare cani obesi che non avessero gravi patologie concomitanti è risultato difficoltoso, soprattutto per quanto riguarda i soggetti appartenenti al gruppo studio, essendo stata molto scarsa la compliance dei proprietari nel sottoporre i cani ad un regime dietetico, nel cucinare l'alimento e nel rispettare i quantitativi prescritti. Altro fattore da non tralasciare, è stata la difficoltà nel reperire la carne bufalina, trattandosi di un prodotto attualmente non ancora molto diffuso e commercializzato. Per le stesse motivazioni sopra elencate, anche la durata dello studio è stata fortemente condizionata e limitata a soli tre mesi, sicuramente non sufficienti per avere una chiara modificazione anche dei parametri ematobiochimici e cardiologici. Tale studio, quindi, andrebbe considerato come preliminare, da riproporre ad un più vasto campione di soggetti e per periodi più lunghi. Una valida alternativa potrebbe essere l'utilizzo della carne bufalina per formulazioni commerciali, sottoforma di croccantini e/o scatolette, che sicuramente riscontrerebbero una maggiore compliance da parte dei proprietari. In tal modo si potrebbero approfondire meglio i suoi effetti benefici nei cani affetti non solo da obesità, patologie metaboliche e cardiache, ma eventualmente anche in soggetti allergici, utilizzando la stessa come "nuova" fonte proteica, tra l'altro, almeno da quanto emerso dal presente lavoro, estremamente appetibile.

10. Conclusioni

Lo scopo del presente studio è stato quello di valutare l'efficacia dietetica della carne bufalina, le cui qualità organolettiche, dietetiche e nutrizionali sono diverse dalle altre carni rosse utilizzate nella dieta del cane, nella gestione alimentare delle malattie per le quali l'assunzione di lipidi deve essere necessariamente ridotta. A tre mesi dall'inizio dello studio, sia l'esame particolare dell'apparato cardiocircolatorio che l'esame elettrocardiografico, così come i parametri ematobiochimici esaminati, non hanno mostrato differenze statisticamente significative tra il gruppo studio (sottoposto a dieta a base di carne bufalina) e il gruppo controllo (abitudini e tipologia di dieta invariate). Invece, dal punto di vista clinico i cani appartenenti al gruppo studio, hanno

mostrato un certo miglioramento dei parametri esaminati, in particolar modo una riduzione del BCS, un minor affanno, minor difficoltà di movimento e della deambulazione in genere.

In base agli esiti riscontrati dal presente studio preliminare, si ipotizza che la dieta basata sulla carne bufalina potrebbe effettivamente apportare dei vantaggi nei cani obesi, ma andrebbero confermati su un campione di soggetti più ampio e soprattutto gli eventuali effetti benefici andrebbero valutati su un più ampio lasso di tempo.

11. Bibliografia

- Abel E.D., Litwin S.E., Sweeney G., 2008. Cardiac remodelling in obesity. *Physiol Rev.* 88, 389-419.
- Adams J.P., Murphy P.G., 2000. Obesity in anaesthesia and intensive care. *Br J Anaesth* 85: 91-108.
- Adiels M., Olofsson S., Taskinen M., Borè J., 2008. Overproduction of very low density lipoproteins is the hallmark of the dyslipidemia in the metabolic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 28, 1225-36.
- Ahima R.S., Prabakaran D., Mantzoros C., Qu D., Lowell B., Maratos-Flier E., Flier J.S., 1996. Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. *Nature* 382, 250-2.
- Alfieri A., Pasanisi F., Salzano S., Esposito L., Martone D, Tafuri D., Daniele A., Contaldo F., Sacchetti L., Zagari A., Buono P., 2010. Functional analysis of melanocortin-4-receptor mutants identified in severely obese subjects living in Southern Italy. *Gene*, 457,35-41
- Anagrafe Nazionale Zootecnica, 2018. Statistiche. Available from: http://statistiche.izs.it/portal/page?_pageid=73,12918&_dad=portal&_schema=PORTAL&op=elenco_rep&p_report=plet_rep_bov&p_titolo=Bovini e Bufalini. Retrieved November 11, 2018
- Andò S., Barone I., Giordano C., Bonofiglio D., Catalano S., 2014. The Multifaceted Mechanism of Leptin Signaling within Tumor Microenvironment in Driving Breast Cancer Growth and Progression. *Front Oncol.* 2014 Nov 26;4:340.
- Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, Hotta K, Shimomura I, Nakamura T, Miyaoka K, Kuriyama H, Nishida M, Yamashita S, Okubo K, Matsubara K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Funahashi T, Matsuzawa Y., 1999. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun*; 257(1):79-83.
- Armstrong P.J., Lund E.M., 1996. Changes in body condition and energy balance with aging. *Vet Clin Nutr*, 3: 83-87.
- Atkins C.E., 1999. Cardiac manifestations of systemic and metabolic disease, p.757-780. In: Fox P.R., Sisson D. e Moise N.S. *Textbook of Canine and Feline Cardiology: Principles and clinical practice.* II ed. W.B. Saunders, Philadelphia.

- Atkinson R.L., 2007. Viruses as an etiology of obesity. *Mayo Clinic Proceedings* 2007; 82(10):1192-1198.
- Atkinson R.L., 2008. Could viruses contribute to the worldwide epidemic of obesity? *International Journal of Pediatric Obesity* 2008; 3: 37-43.
- Atkinson R.L., Dhurandhar N.V., Allison D.B. et al., 2005. Human adenovirus-36 is associated with increased body weight and paradoxical reduction of serum lipids. *Int J Obes*; 29:281-6.
- Atkinson T.J., 2008. Central and peripheral neuroendocrine peptides and signalling in appetite regulation: considerations for obesity pharmacotherapy. *Obes Rev.* 2008; 9(2):108-20.
- Attaman JA1, Toth TL, Furtado J, Campos H, Hauser R, Chavarro JE., 2012. Dietary fat and semen quality among men attending a fertility clinic. *Hum Reprod.* 2012 May;27(5):1466-74.
- Baba E., Arakawa A., 1984. Myocardial hypoxia in an obese beagle. *Vet Med Sm Anim Clin* 79, 788-91.
- Bach J.F., Rozansky E.A., Bedenice D., Chan D.L., Freeman L.M., Lofgren J.L., Oura T.J., Hoffman A.M., 2007. Association of expiratory airway dysfunction with marked obesity in healthy adult dogs. *American Journal of Veterinary Research* 68, 670-675.
- Bado A., et al. 1998. The stomach is a source of leptin. *Nature* 394, 790-793.
- Bailhache E., Nguyen P., Krempf M., Siliart B., Magot T., Ouguerram K., 2003. Lipoproteins abnormalities in obese insulin-resistant dogs. *Metabolism.* 2003 May;52(5):559-64.
- Balthasar N., Dalgaard L.T., Lee C.E., Yu j., Funahashi H., Williams T., Ferreira M., Tang V., McGovern R.A., Kenny C.D., Christiansen L.M., Eldestein E., Choi B., Boss O., Aschkenasi C., Zhang C.Y., Mountjoy K., Kishi T., Elmquist J.K., Lowell B.B., 2005. Divergence of melanocortin pathways in the control of food intake and energy expenditure. *Cell* 123, 493-505.
- Bastien B.C., Patil A., Satyaraj E., 2015. The impact of weight loss on circulating cytokines in Beagle dogs. *Vet Immunol Immunopathol.* 2015 Feb 15;163(3-4):174-82.
- Batterham M., 2002. Comparison of bioelectrical impedance and near infra-red interactance with dual energy x-ray absorptiometry for the determination of body fat *J Diet Assoc Australia* 2002: 59; 120.
- Bauer J.E., 2004. Lipoprotein-mediated transport of dietary and synthesized lipids and lipid abnormalities of dog and cats. *J Am Med Assoc* 2004;224:668-675.

- Behre H.M., Simoni M., Nieschlag E., 1997. Strong association between serum levels of leptin and testosterone in men. *Clinical Endocrinology* 47, 237-240.
- Bernard A., Cohen R., Khuth S.T., Vedrine B., Verlaeten O., Akaoka H., Giraudon P., Belin M.F., 1999. Alteration of the leptin network in late morbid obesity induced in mice by brain infection with canine distemper virus. *J Virol* 73, 7317-27.
- Bernard A., Fevre-Montagne M., Bencsik A., Giraudon P., Wild T.F., Confavreux C., Belin M.F., 1993. Brain structures selectively targeted by Canine Distemper Virus in a mouse model infection. *J Neuropath Exp Neur* 52,471-80.
- Bjorntorp B., 1991. Adipose tissue distribution and function. *Int J Obes*, 15,67-81.
- Blanchard G., Nguyen P., Gayet C., Leriche I., Siliart B., Paragon B.M., 2004. Rapid weight loss with a high-protein low-energy diet allows the recovery of ideal body composition and insuline sensivity in obese dogs. *Journal of Nutrition*, 134:2148S-2150S.
- Blois S.L., Poma R., Stalker M.J., Allen D.G., 2008. A case of primary hypothyroidism causing central nervous system atherosclerosis in a dog. *Can Vet j* 49, 789-92.
- Blum WF, Englaro P, Hanitsch S, Juul A, Hertel NT, Müller J, Skakkebaek NE, Heiman ML, Birkett M, Attanasio AM, Kiess W, Rascher W., 1997. Plasma leptin levels in healthy children and adolescents: dependence on body mass index, body fat mass, gender, pubertal stage, and testosterone. *J Clin Endocrinol Metab.* ;82(9):2904-10.
- Bodey A.R., Mitchell A.R., 1996. Epidemiological study of blood pressure in domestic dogs. *J Small Anmim Pract* 37, 116-25.
- Boon J.A. *Veterinary echocardiography*. 2nd Ed., Wiley-Blackwell, St. Louis, 2011
- Borghese A, 2005. Buffalo production and research, Buffalo Population and Strategies in the World. Rome: FAO.
- Borghese A, 2013. Buffalo livestock and products in Europe. *Buffalo Bull* 32:50-74.
- Boynosky N.A., Stokking L., 2014. Atherosclerosis associated with vasculopathic lesions in a Golden Retriever with hypercholesterolemia. *Can Vet J* 55, 484-8.
- Bresciani F., Moncharmont B., 2010. Patologia generale del sistema endocrino. In: G.M. Pontieri, M.A. Russo, L. Frati. *Patologia Generale*, IV edizione.
- Brown S¹, Atkins C, Bagley R, Carr A, Cowgill L, Davidson M, Egner B, Elliott J, Henik R, Labato M, Littman M, Polzin D, Ross L, Snyder P, Stepien R; American College of Veterinary Internal

Medicine, 2007. Guidelines for the identification, evaluation, and management of systemic hypertension in dogs and cats. J Vet Intern Med. 2007 May-Jun;21(3):542-58.

- Burkholder W.J., 1994. Body composition of dogs determined by carcass composition analysis, deuterium oxide dilution, subjective and objective morphometry and bioelectrical impedance. PhD dissertation Blacksburg, VA: Virginia Polytechnic Institute and State University: 357.
- Burkholder W.J., 2001. Precision and practicality of methods of assessing body composition of dogs and cats. *Compendium of Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, 23: 1-10.
- Burkholder W.J., Bauer J.E., 1998. Foods and techniques for managing obesity in companion animals. *J Am Vet Med Assoc.* 1998 Mar 1;212(5):658-62.
- Butterwick R.F., Markwell P.J., 1997. Effect of amount and type of dietary fiber on food intake in energy-restricted dogs. *Am J Vet Res.* 1997 Mar;58(3):272-6.
- Cama A., Cama G., 2010. Obesità. In: G.M. Pontieri, M.A. Russo, L. Frati. *Patologia Generale*, IV edizione.
- Cama A., Muraro R., 2010. Il diabete mellito. In: G.M. Pontieri, M.A. Russo. L. Frati. *Patologia generale*, IV edizione.
- Cassis L.A., Police S.B., Yiannikouris F., Tathcher S.E., 2008. Local adipose tissue renin-angiotensin system. *Curr Hypertens Rep* 10,93-8.
- Castell J.V., Gomez-Lechon M.J., David M., Andus T. Geiger T., Trullenque R., Fabra R., Heinrich PC. 1989. Interleukin-6 is the major regulator of acute phase protein synthesis in adult human hepatocytes. *FEBS Lett* 242,237-9.
- Castro A.V., Woolcott O.O., Iyer M.S., Kabir M., Ionut V., Stefanovski D., Kolka C.M., Szczepaniak L.S., Szczepaniak E.W., Asare-Bediako I., Paszkiewicz R.L., Broussard J.L., Kim S.P., Kirkman E.L., Rios H.C., Mkrtychyan H., Wu Q., Ader M., Bergman R.N., 2015. Increase in visceral fat per se does not induce insulin resistance in the canine model. *Obesity* 2015 Jan;23(1):105-11
- Catanzaro R., Cuffari B., Italia A., Marotta F., 2016. Exploring the metabolic syndrome: nonalcoholic fatty pancreatic disease. *World J Gastroenterol* 22, 7660-75.

- Celi F.S., 2009. Brown adipose tissue – when it pays to be inefficient. *N Engl J Med* 2009; 360(15):1553-6.
- Chagnac A., Weinstein T., Korzets A., Ramadan E., Hirsch J., Gafter U., 2000. Glomerular hemodynamics in severe obesity. *Am J Physiol Renal Physiol* 278, F817-22.
- Chauvet A., Laclair J., Elliott D.A., German A.J., 2011. Incorporation of exercise, using an underwater treadmill, and active client education into a weight management program for obese dogs. *Can Vet J.* 2011 May;52(5):491-6.
- Chikamune T., Katamoto H., Ohashi F., Shimada Y., 1995. Serum lipid and lipoprotein concentrations in obese dogs. *J Vet Med Sci* 57: 595-8.
- Cho K.D., Paek J., Kang J.H., Chang D., Na K.J., Yang M.P., 2013. Serum adipokine concentrations in dogs with naturally occurring pituitary-dependent hyperadrenocorticism *J Vet Intern Med* 28,429-436.
- Christmann U., Bečvářová I., Werre S.R., Meyer H.P., 2015. Effectiveness of a New Weight Management Food to Achieve Weight Loss and Maintenance in Client-owned Obese Dogs. *International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine* . 2015, Vol. 13 Issue 2, p104-116. 13p.
- Chun R., Garrett L., 2005. Urogenital and Mammary Gland Tumors. In : Ettinger SJ, Feldman EC eds. *Textbook of Veterinary Internal Medicine: diseases of the dog and cat*, vol 1. 6th.
- Chung K.F., Barnes P.J., 1999. Cytokines in asthma. *Thorax* 54, 825-857.
- Clark M., Hoenig M., 2016. Metabolic Effects of Obesity and Its Interaction with Endocrine Diseases. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2016 Sep;46(5):797-815.
- Clement K., Vaisse C., Lahlou N., Cabrol S., Pelloux V., Cassuto D., Gourmelen M., Dina C., Chambaz J., Lacorte J.M., Basdevant A., Bougneres P., Lebouc Y., Froguel P., Guy-Grand B., 1998. A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. *Nature* ,392,398-401.
- Cline M.G., Lauten S., Cox S., Bavgates J.W., 2009 The relationship between Obesity and Marker of Oxidative Stress in dogs [abstract]. *J Anim Physiol Anim Nutr* 93, 141-6.
- Clutton R.E., 1988. The medical implications of canine obesity and their relevance to anaesthesia. *Br Vet J* 144, 21-8.

- Colliard L., Ancel J., Benet J.J., Paragon B.M., Blanchard G., 2006, Risk factors for obesity in dogs in France. *Journal of Nutrition* 136,1951-1954
- Conaghan P.G., Vanharanta H., Dieppe P.A.. 2005. Is progressive osteoarthritis an atheromatous vascular disease? *Ann Rheum Dis.* 2005 Nov;64(11):1539-41.
- Cornell-CC¹, Kittleson MD, Della Torre P, Häggström J, Lombard CW, Pedersen HD, Vollmar A, Wey A. Allometric scaling of M-mode cardiac measurements in normal adult dogs. *J Vet Intern Med.* 2004 May-Jun;18(3):311-21.
- Crujeiras A.B., Casanueva F.F., 2014. Obesity and the reproductive system disorders: epigenetics as a potential bridge. *Hum. Reprod. Update* 2015, 21, 249-61.
- DeGroot J., Verzijl N., Wenting-van Wijk M.J., Jacobs K.M., Van El B., Van Roermund P.M., Bank R.A., Bijlsma J.W., TeKoppele J.M., Lafeber F.P., 2004. Accumulation of advanced glycation end products as a molecular mechanism for aging as a risk factor in osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 2004 Apr;50(4):1207-15.
- Dhurandhar N.V., 2001. Infectobesity: obesity of infectious origin. *J Nutr.* 2001 Oct;131(10):2794S-2797S.
- Diez M., Michaux C., Jeusette I., Baldw P., Istasse L., Biourge V., 2004. Evolution of blood parameters during weight loss in experimental obese Beagle dogs. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 88, 166-171.
- Diez M., Nguyen P., 2006. The epidemiology of canine and feline obesity. *Waltham Focus* 16,2-8
- Diez M., Nguyen P., Jeusette I., Devois C., Istasse L., Biourge V., 2002. Weight loss in obese dogs: evaluation of a high-protein, low-carbohydrated diet. *Journal of Nutrition*, 132:1685S-1687S.
- Dixon R.M., Reid S.W., Mooney C.T., 1999. Epidemiological, clinical haematological and biochemical characteristics of canine hypothyroidism. *Vet. Rec.* 145, 481-487.
- Dobenecker B., De Bock M., Engelen M., Goossens L., Scholz A., Kienzle E., 2009. Effect of mitratapide on body composition, body measurements and glucose tolerance in obese Beagles. *Veterinary Research Communications*; 33(8): 839-847.
- Dobenecker B., Kienzle E., 1998. Interactions of cellulose content and diet composition with food intake and digestibility in dogs. *J Nutr* 1998; 128:2674S-5.

- Dood G.T., Worth A.A., Nunn N., Korpak A.K., Bechtold D.A., Allison M.B., Myers M.G. Jr, Statnick M.A., Luckman S.M., 2014. The thermogenic effect of leptin is dependent on a distinct population of prolactin-releasing peptide neurons in the dorsomedial hypothalamus. *Cell Metab* 20, 639-49.
- Dumond H., Presle N., Terlain B., Mainard D., 2003. Evidence for a key role of leptin in osteoarthritis. *Arthritis and Rheumatism* 48, 3118-3129.
- Edney e Smith, 1986. Study of obesity in dogs visiting veterinary practices in the United Kingdom. *Veterinary Record* 118, 391-396.
- Eirmann L.A., Fleeman L.M., Laflamme D.P., Michel K.E., Satyaraj E., 2009. Comparison of adipokine concentrations and markers of inflammation in obese versus obese dogs. *Domest. Anim. Endocrinol.* 37, 214-226.
- Eisele I., Wood I.S., German A.J., Hunter L., Trayhurn P., 2005. Adipokine gene expression in dog adipose tissues and dog white adipocytes differentiated in primary culture. *Horm Metab Res.* 2005 Aug;37(8):474-81.
- Ellis K.J., 1996. Measuring body fatness in children and young adults: comparison of bioelectric impedance analysis, total body electrical conductivity, and dual-energy X-ray absorptiometry. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1996 Sep;20(9):866-73.
- England G., von Heimendahl A., 2011. *Canine and Feline Reproduction and Neonatology.*
- FEDIAF (2018). *Nutritional guidelines for complete and complementary pet food for cats and dogs.* Belgium: European Pet Food Industry Federation Brussels.
- Fernandez-Sanchez A., Madrigal-Santillan E., Bautista M., Esquivel-Soto J., Morales-Gonzalez A., Esquivel- Chirino C., Durante-Montiel I., Sanchez-Rivera G., Valadez-Vega C., Morales-Gonzalez J.A., 2011. Inflammation, oxidative stress and obesity. *Int J Mol Sci* 12, 3117-32.
- Ferrari R., 1997. The importance of cachexia in the syndrome of heart failure. *Eur Heart j*, 18:187-9.
- Ferraù F., Korbonits M., 2015. Metabolic comorbidities in Cushing's syndrome. *Eur J Endocrinol* 173, M133-57.
- Filippatos GS1, Tsilias K, Venetsanou K, Karambinos E, Manolatos D, Kranidis A, Antonellis J, Kardaras F, Anthopoulos L, Baltopoulos G., 2000. Leptin serum levels in cachectic heart

failure patients. Relationship with tumor necrosis factor-alpha system. *Int J Cardiol.* 2000 Nov-Dec; 76(2-3):117-22.

- Fisher A., Waterhouse T.D., Adams A.P., 1975. Obesity: it's relation to anaesthesia. *Anaesthesia*; 30:633-647.
- Fleury C., Neverova M., Collins S., Raimbault S., Champigny O., Levi-Meyrueis C., Boillaud F., Seldin M.F., Surwit R.S., Ricquier D., Warden C.H. 1997. Uncoupling protein-2: a novel gene linked to obesity and hyperinsulinemia. *Nat Genet* 15, 269-272.
- Flournoy W.S., Wohl J.S., Macintire D.K., 2003. Keatstroke in dogs pathophysiology and predisposing factors. *Comp Cont Educ* 2003; 6:410-418.
- Frederich R.C. Jr, Kahn B.B., Peach M.J., Flier J.S., 1992. Tissue-specific nutritional regulation of angiotensinogen in adipose tissue. *Hypertension* 19, 339-44.
- Frederich R.C., Hamann A., Anderson S., Lollmann B., Lowell B.B., Flier J.S., 1995. Leptin levels reflect body lipid content in mice: Evidence for diet-induced resistance to leptin action. *Nature Medicine* 1, 1311-1314.
- Friedman J.M., Halaas J.L., 1998. Leptin and regulation of body weight in mammals. *Nature* 395,763-770
- Furukawa S., Fujita T., Shimabukuro M., Iwaki M., Yamada Y., Nakajima Y., Nakayama O., Makishima M., Matsuda M., Sshimomura I., 2004. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome, *Journal of Clinical Investigation* 114, 1752-61.
- Gayet C., Bailhache E., Dumon H., Martin L., Siliart B., Nguyen P., 2004. Insulin resistance and changes in plasma concentration of TNFalpha, IGF1, and NEFA in dogs during weight gain and obesity. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*. 2004 Apr;88(3-4):157-65.
- Gayet C., Leray V., Saito M., Siliart B., Nguyen P., 2007. The effects of obesity-associated insulin resistance on mRNA expression of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma target genes, in dogs. *Br J Nutr.* 2007 Sep; 98(3):497-503.
- German A.J., 2006. The growing problem of obesity in dogs and cats. *J Nutr* 136, 1940-6.
- German A.J., 2015. Style over substance: what can parenting styles and obesity tell us about ownership styles and obesity in companion animals? *The British Journal of Nutrition*, 113:S72-S77.

- German A.J., Hervera M., Hunter L., Holden S.L., Morris P.J., Biourge V., Trayhurn P., 2009. Improvement in insuline resistance and reduction in plasma inflammatory adipokines after weight loss in obese dogs. *Domestic Animal Endocrinology* 37, 214-226.
- Giordano G, Guarini P, Ferrari P, BiondiZoccai G, Schiavone B, Giordano A, 2010. Beneficial impact on cardiovascular risk profile of water buffalo meat consumption. *Eur J Clin Nutr* 64:1000-6
- Glickman L.T., Sonnenschein E.G., Goickman N.W. et al., 1995. Pattern of diet and obesity in female adult pet dogs. *Vet Clin Nutr* 2, 6-13.
- Goldfine A.B., Hahn C.R., 2003. Adiponectin: linking the fat cell to insulin sensitivity. *Lancet*; 362:1431-2.
- Gregory S.P., 1994. Developments in the understanding of the pathophysiology of urethral sphincter mechanism incompetence in the bitch. *British Veterinary Journal* 150, 135-150.
- Grierson J., Asher L., Grainger K., 2011. An investigation into risk factors for bilateral canin cruciate ligament rupture. *Vet Comp Orthop Traumatol* 2011; 24,192-196.
- Gross K.L., Zicker S.C., 2000. L-carnitine increases muscle mass, bone mass and bone density in growing large breed puppies. *J Anim Sci*; 78:176.
- Guerciolini R., 1997. Mode of action of orlistat. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1997;21:S12-S23.
- Hameed S., Dhillon W.S., Bloom S.R., 2009. Gut Hormones and appetite control. *Oral Dis* 2009;15(1):18-26.
- Heidenberger E., Unshelm J., 1990. Changes in the behavior of dogs after castration, *Tierarztl Prax* 18, 69-75
- Henegar J.R., Bigler S.A., Henegar L.K., Tyag S., Hall J.E., 2001. Functional and structural changes in the kidney in the early stages of obesity. *J Am Soc Nephrol* 12, 1211-7.
- Hess R.S., Kass P.H., Shofer F.S., Van Winkle T.J., Washabau R.J., 1999. Evaluation of risk factors for fatal acute pancreatitis in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 214, 46-51
- Hess R.S., Kass P.H., Van Winkle T.J., 2003. Association between diabetes mellitus, hypothyroidism or hyperadrenocorticism and atherosclerosis in dogs. *J Vet Intern Med* 17, 489-94.

- Heterington A.W., Ranson S.W., 1942. The spontaneous activity and food intake of rats with hypothalamic lesions. *Am. J. Physiol.* 136, 609-617.
- Hofker M., Wijmenga C., 2009. A supersized list of obesity genes. *Nat Genet.* 2009; 41(2): 139-40.
- Holt P.H., 2012. Sphincter mechanism incompetence. In: *Veterinary Surgery: Small Animal*. Eds K.M. Tobias and S.A. Johnston. Elsevier Saunders , St Louis, MO, USA, pp 2011-2018.
- Houpt KA, Coren B, Hintz HF, Hilderbrant JE.,1979. Effect of sex and reproductive status on sucrose preference, food intake, and body weight of dogs. *J Am Vet Med Assoc* 174(10):1083-5.
- Huck J.L., Biery D.N., Lawler D.F., Gregor T.P., Runge J.J., Evans R.H., Kealy R.D., Smith G.K., 2009. A longitudinal study of the influence of lifetime food restriction on development of osteoarthritis in the canine elbow. *Vet Surg.* 2009 Feb;38(2):192-8.
- Huypens P., Moens K., Heimberg H., Ling Z., Pipeleers D., Van De Castele M., 2005. Adiponectin-mediated stimulation of AMP-activated protein kinase (AMPK) in pancreatic beta cells. *Life Sci* 2005; 77(11):1273-1282.
- Impellizeri J.A., Tetrick M.A., Muir P., 2000. Effect of weight reduction on clinical signs of lameness in dogs with hip osteoarthritis. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 216, 1089-1091.
- Intakes DR, 2011. Dietary Reference Intakes (DRIs): Recommended Dietary Allowances and Adequate Intakes, Vitamins Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academies. *NutrRev*
- Ishioka K., Hatai H., Komabayashi K., Soliman M.M., Shibata H., Honjoh T., Kimura K., Saito M., 2005. Diurnal variations of serum leptin in dogs: effect of fasting and re-feeding. *Vet J.* 169, 85-90.
- Ishioka K., Hosoya K., Kitagawa H., Honjoh T., Kimura K., Saito M., 2007. Plasma leptin concentration in dogs: effects of body condition score, age, gender and breed. *Res Vet Sci* 82, 11-5.
- Ishioka K., Omachi A., Sagawa M., Shibata H., Honjoh T., Kimura K., Saito M., 2006. Canine adiponectin: cDNA structure, mRNA expression in adipose tissues and reduced plasma levels in obesity. *Res Vet Sci.* 2006 Apr;80(2):127-32.

- Ishioka K., Soliman M.M., Honjoh T., Shibata H., Kimura K., Saito M., 2002. Dexamethasone increases leptin concentrations in dogs. *Vet J.* 2002 Nov;164(3):295-7.
- Jeusette I., Daminet S., Nguyen P., Shibata H., Saito M., Honjoh T., Istasse L., Diez M., 2006. Effect of ovariectomy and ad libitum feeding on body composition, thyroid status, ghrelin and leptin plasma concentrations in female dogs. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 90,1-2:12-18.
- Jeusette I., Detilleux J.D., Cuvelier C., Istasse L., Diez M.J., 2004. Ad libitum feeding following ovariectomy in female Beagle dogs: effect on maintenance energy requirement and on blood metabolites. *Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 88,117-21.
- Jeusette I., Greco D., Aquino F., Detilleux J., Peterson M., Romano V., Torre C., 2010. Effect of breed on body composition and comparison between various methods to estimate body composition in dogs. *Res Vet Sci.* 2010 Apr;88(2):227-32
- Jeusette I.C., Lhoest E.T., Istasse L.P., Diez M.O., 2005. Influence of obesity on plasma lipid and lipoprotein concentrations in dogs. *Am J Vet Res.* 2005 Jan;66(1):81-6.
- Joshua J.O., 1970. The obese dog and some clinical repercussion. *J Small Anim. Pract.* 11, 601-6.
- Kagawa Y., Hirayama K., Uchida E., Izumisawa Y., Yamaguchi M., Kotani T., Niiyama M., Yoshino T., Taniyama H., 1998. Systemic atherosclerosis in dogs: histopathological and immunoistochemical studies of atherosclerotic lesion. *J Comp Pathol* 118, 195-206
- Kealy R.D., Lawler D.F., Ballam J.M., Mantz S.L., Biery D.N., Greeley E.H., Lust G., Segre M., Smith G.K., Stowe H.D., 2002. Effects of diet restriction on life span and age-related changes in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 220, 1315-1320.
- Kennedy G.C., 1953. The role of depot fat in the hypothalamic control of food intake in the rat, *Proc. R. Soc. Lond. B* 140, 578-592.
- Kharroubi I., Rasschaert J., Eizirik D.L., Cnop M., 2003. Expression of adiponectin receptors in pancreatic beta cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 312(4):1118-1122.
- Kieler I.N., Shamzir Kamal S., Vitger A.D., Nielsen D.S., Lauridsen C., Bjornvad C.R., 2017. Gut microbiota composition may relate to weight loss rate in obese pet dogs. *Vet Med Sci.* 2017 Nov 3;3(4):252-262.

- Kienzle E., Bergler R., Mandernach A., 1998. A comparison of the feeding behaviour and the human-animal relationship in owners of normal and obese dogs. *Journal of Nutrition* 128, 2779-2782.
- Kleinbongard P., Heusch G., Schulz R., 2010. TNFalpha in atherosclerosis, myocardial ischemia/reperfusion and heart failure. *Pharmacol Ther.* 127, 295-314.
- Kopelmann P.G., 2000. Obesity as a medical problem. *Nature* 404, 635-43
- Kotaru M., Yoshikawa H., Ikeuchi T., Saito K., Ikawi K., Ibuki F., 1987. An a-amylase inhibitor from cranberry bean (*Phaseolus vulgaris*): its specificity in inhibition of mammalian pancreatic a-amylases and formation a complex with the porcine enzyme. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 33, 359-367.
- Laflamme D.P., 1997. Development and validation of a body condition score system for dogs. *Canine Practice* 22, 10-15.
- Laflamme D.P., 2005. Nutrition for aging Cats and Dogs and the importance of body condition. *Vet Clin Small Anim* 35, 713-742.
- Lam D.W., LeRoith D., 2015. Metabolic syndrome. In: De Groot LJ1, Chrousos G2, Dungan K3, Feingold KR4, Grossman A5, Hershman JM6, Koch C7, Korbonits M8, McLachlan R9, New M10, Purnell J11, Rebar R12, Singer F13, Vinik A14, editors. *SourceEndotext* [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-.
- Laminpaa R., Vehvilainen-Juljunen K., Gissler M., Selander T., Heinonen S., 2016. Pregnancy outcomes of overweight and obese women aged 35 years or older – A registry-based study in Finland. *Obese Res Clin Pract.* 10, 133-42.
- Landi N, di Giuseppe AMA, Ragucci S, di Maro A, 2016. Free amino acid profile of *Bubalus bubalis* L. meat from the Campania region. *RevBrasilZootec* 45:627-31
- Lane N.E., 1995. Exercise-a cause of osteoarthritis. *J Rheumatol* 22, 3-6.
- Lauten S.D., Cox N.R., Brawner Jr. W.R., Baker H.J., 2001. Use of dual energy X-ray absorptiometry for noninvasive body composition measurements in clinically normal dogs. *Am j Vet Res* 62, 1295-1301.
- Leray V., Gayet C., Martin L., Dumon H., Siliart B., Nguyen P., 2004. Modulation of uncoupling protein 1 and peroxisome proliferator-activated receptor gamma expression in adipose tissue in obese insulin-resistant dogs. *J Nutr.* 2004;134:2154S-2157S.

- Levine B., Kalman J., Mayer L., Fillit H.M., Packer M., 1990. Elevated circulating levels of tumor necrosis factor in severe chronic heart failure. *N Engl J Med*, 323(4):236-41.
- Leyva F., Anker S.D., Egerer K., Stevenson J.C., Kox W.J., Coats A.J., 1998. Hyperleptinaemia in chronic heart failure. Relationships with insulin. *Eur Heart J.*, 19:1547-51.
- Libby P., 2002. Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 420, 868-74.
- Lin Y., Li Q., 2005. The Regulation of Development and Lactation of the Mammary Gland by Leptin. *The Journal of American Science*.
- Liu L.Y., Wang M., Ma Z.B., 2013. The role of adiponectin in breast cancer: a meta analysis. *PloS One*, 2013;8(8):e73183.
- Lord G.M., 2006. Leptin as proinflammatory cytokine. *Contrib Nephrol.* 151, 151-64.
- Lund E.M., Armstrong P.J., Kirk C.A., Klausner J.S., 2006. Prevalence and risk factors for obesity in adult dogs from private US veterinary practices. *International Journal of Research in Veterinary Medicine* 4,177-186.
- Magni P., 2003. Hormonal control of the neuropeptide Y system. *Curr Protein Pept Sci.* 4(1):45-57.
- Manens J., Bolognin M., Bernaerts F., Diez M., Kirschvink N., Clercx C., 2012. Effects of obesity on lung function and airway reactivity in healthy dogs. *Vet J.* 2012 Jul;193(1):217-21.
- Mantovani A., Locati M., Sozzani S., 2010. Infiammazione. In: G.M. Pontieri, M.A. Russo, L. Frati. *Patologia Generale*, IV edizione.
- Markwell P.J., Butterwick R.F., Willis J.M., Raiha M., 1994. Clinical studies in the management of obesity in dogs and cats. *Int J Obesity* 18, S39-S43.
- Marshall W.G., Bockstahler B.A., Hulse D.A., Carmichael S., 2009. A review of osteoarthritis and obesity: current understandig of the relationship and benefit of obesity treatment and prevention in the dog. *Vet Comp Orthop Traumatol* 22,339-45.
- Mason E., 1970. Obesity in pet dogs. *Vet Rec*, 86, 612-6
- Masuzaki H., Ogawa Y., Sagawa N., Hosoda K., Matsumoto T., Mise H., Nishimura H., Yoshimasa Y., Tanaka I., Mori T., Nakao K., 1997. Nonadipose tissue production of leptin: leptin as a novel placenta-derived hormone in humans. *Nature Med.* 3, 1029-1033.
- Matarese G., Procaccini C., De Rosa V., Horvath T.L., La Cava A., 2010. Regulatory T cells in obesity: The leptin connection. *Trends in Molecular Medicine* 16, 247-256.

- Matson C.A., Wiater M.F., Kuijper J.L., Weigie D.S., 1997. Synergy between leptin and cholecystokinin (CCK) to control daily caloric uptake. *Peptides* 18, 1275-1278.
- Matsubara M., Maruoka S., Katayose S., 2002. Inverse relationship between plasma adiponectin and leptin concentrations in normal-weight and obese women. *European Journal of Endocrinology* 147, 173-180.
- Matsuzawa Y., 2006. The metabolic syndrome and adipocytokines. *FEBS Letters* 580, 2917-2921.
- Mattheeuws D., Rottiers R., 1984. Glucose tolerance and insulin response in dogs with spontaneous diabetes, obesity and following prolonged fasting. *Verh K Acad Geneesk Belg*, 46(6):441-62.
- Maury E., Brichard S.M., 2010. Adipokine dysregulation, adipose tissue inflammation and metabolic syndrome. *Molecular and Cellular Endocrinology* 314,1-16.
- Mawby D.I., Bartges J.W., d'Avignon A., Laflamme D.P., Moyers T.D., Cottrell T., 2004. Comparison of various methods for estimating body fat in dogs. *Journal of the American Animal Hospital Association*, Vol. 40, No. 2, 109-114.
- Mazaki-Tovi M., Feuermann Y., Segev G., Klement E., Yas-Natan E., Farkas A., Kol B.A., Shamay A., 2010. Increased serum leptin concentrations in canine hypothyroidism. *The Veterinary Journal* 183, 109-114.
- McDaniel J, Askew W, Bennett D, Mihalopoulos J, Anantharaman S, Fjeldstad AS, Rule DC, Nanjee NM, Harris RA, Richardson RS, 2013. Bison meat has a lower atherogenic risk than beef in healthy men. *Nutr Res* 33:293-302
- McGreevy P.D., Thomson P.C., Pride C., Fawcett A., Grassi T., Jones B., 2005. Prevalence of obesity in dogs examined by Australian veterinary practices and the risk factors involved. *Veterinary Record* 156, 695-702.
- Meek T.H., Morton G.J., 2012. Leptin, diabetes and the brain. *Indian J Endocrinol Metab* 16, S534-42
- Mehlman E., Bright J.M., Jeckel K., Porsche C., Veeramachaneni D.N.R., Frye M., 2013. Echocardiographic evidence of left ventricular hypertrophy in obese dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 27, 62-68

- Meyer H., Drochner W., Weidenhaupt C., 1978. A contribution to the occurrence and treatment of obesity in dogs. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 85:133-136.
- Morooka T., Niiyama E., Uchida M., Saito M., Uemura K., Miyoshine D., 2001. Measurement of the back fat layer in beagles for estimation of obesity using two-dimensional ultrasonography. *Journal of Small Animal Practice*, 42, 56-59.
- Morris C.K., Froelicher V.F., 1993. Cardiovascular benefits of improved exercise capacity. *Sports Med* 16, 225-236.
- Morton G.J., Cummings D.E., Baskin D.G., Barsh G.S., Schwartz M.W., 2006. Central nervous system control of food intake and body weight. *Nature*. 2006; 443(7109):289-95. Review.
- Mosing M., German A.J., Holden S.L., MacFarlane P., Biourge V., Morris P.J., Iff I., 2013. Oxygenation and ventilation characteristics in obese sedated dogs before and after weight loss: a clinical trial. *Vet J*. 2013 Nov;198(2):367-71.
- Munday H.S., Booles D., Anderson P., Poore D.W., Earle K.E., 1994. The repeatability of body composition measurements in dogs and cats using dual energy X-ray Absorptiometry. *J Nutr*; 124:2619S-2621S.
- Muse E.D., Obici S., Bhanot S., Monia B.P., McKay R.A., Rajala M.W., Scherer P.E., Rossetti L., 2004 Role of resistin in diet-induced hepatic insulin resistance. *J Clin Invest* 114,232-9.
- Mussa P.P, Prola L., Meineri G., 2006. Obesity in dog: a survey results in Italy. Proceedings of the 10th ESVCN Congress, Nantes, France, 5-7 October 2006.
- Muthusamy V.V., 2016. Management of dyslipidemia in hypertension. *J Hypertens*, Sep 34 Suppl 1.
- Nagaoka D., Mitsuhashi Y., Angell R., Bigley K.E., Bauer J.E., 2009. Reinduction of obese body weight occurs more rapidly and lower caloric intake in beagles. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*; 94: 287-292.
- Nakamura K., Fuster J.J., Walsh K., 2013. Adipokines: A link between obesity and cardiovascular disease. *J Cardiol* 63, 250-9.
- Nelson D.L., Cox M.M., 2005. *Lehninger principles of biochemistry* (4th ed.)
- Nelson O.L., Sellon R.K., 2005. Pulmonary parenchymal diseases. In: Ettinger S.J., Feldman E.C. eds. *Textbook of Veterinary Internal Medicine: diseases of the dog and cat*, vol 2. 6th.

- Nelson R.W., Delaney S.J., Elliot D.A., 2009. Disorders of Metabolism. In: Small Animal Internal Medicine 4th Edition.
- Neto G.B., Brunetto M.A., Sousa M.G., Carciofi A.C., Camacho A.A., 2010. Effects of weight loss on the cardiac parameters of obese dogs. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, 30, 2:167-171.
- Newberne P.M., 1966. Overnutrition and resistance of dogs to distemper virus [abstract]. *Fed. Proc.* 25, 1701-10.
- Niebauer J., Volk H.D., Kemp M., Dominguez M., Schumann R.R., Rauchaus M., Poole-Wilson P.A., Coats A.J., Anker S.D. Endotoxin and immune activation in chronic heart failure: a prospective cohort study. *Lancet* 353:1838-42.
- Obiro W.C., Zhang T., Jiang B., 2008. The nutraceutical role of *Phaseolus vulgaris* α -amylase inhibitor. *British Journal of Nutrition* 100:1-12.
- Ogura K., Irahara M., Kiyokawa M., Tezuka M., Matsuzaki T., Yasui T., Kamada M., Aono T., 2001. Effects of leptin on secretion of LH and FSH from primary cultured female rat pituitary cells. *Eur J Endocrinol* 144, m 653-8.
- Olivares-Reyes J.A., Arellano-Plancarte A., Castillo-Hernandez, 2009. Angiotensin II and the development of insuline resistance : implication fo diabetes. *Mol Cell Endocrinol* 302, 128-39.
- O'Neill DG, Riddell A, Church DB3, Owen L, Brodbelt DC, Hall JL, 2017. Urinary incontinence in bitches under primary veterinary care in England: prevalence and risk factors. *J Small Anim Pract* 58 (12): 685-693.
- Otto C.M., 2013. Textbook of clinical echocardiografy-5th edition
- Ouchi N., Parker J.L., Lugus J.J., Walsh K., 2011. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat Rev Immunol* 11, 85-97.
- Ouchi N1, Ohishi M, Kihara S, Funahashi T, Nakamura T, Nagaretani H, Kumada M, Ohashi K, Okamoto Y, Nishizawa H, Kishida K, Maeda N, Nagasawa A, Kobayashi H, Hiraoka H, Komai N, Kaibe M, Rakugi H, Ogihara T, Matsuzawa Y., 2003. Association of hypoadiponectinemia with impaired vasoreactivity. *Hypertension*. 2003 Sep;42(3):231-4. Epub 2003 Jul 14.
- Owen O.E., 1988. Obesity. In: Kinney J.M., Jeejeebhoy K.N., Hill G.L., eds. Nutrition and metabolism in patient care. Philadelphia, PA: WB Saunders Co, 167-192.

- Packer R.M., Hendricks A., Volk H.A., Shihab N.K., Burn C.C., 2013. How long and low can you go? Effect of conformation on the risk of thoracolumbar intervertebral disc extrusion in domestic dogs. *PLoS One*. 2013 Jul 24;8(7): e69650.
- Pak-Son I.L., Youn-Hwa Young, Pak S.I. et al., 1999. Risk factors for *Malassezia pachydermatis*-associated dermatitis in dogs: a case-control study. *Kor J Vet Clin Med*; 16:80-5.
- Park H.J., Lee S.E., Kim H.B., Isaacson R.E., Seo K.W., Song K.H., 2015. Association of obesity with serum leptin, adiponectin, and serotonin and gut microflora in beagle dogs. *J Vet Intern Med*. 2015 Jan;29(1):43-50
- Parkin G.D., 1994. Management of obesity-the practitioners experience. *Int J Obesity* 18, S36-S38.
- Parthasarathy S., Kloo J.C., Miller E, Barnett J., Witztum J.L., Steinberg D. (1990). Low density lipoprotein rich in oleic acid is protected against oxidative modification: implications for dietary prevention in atherosclerosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87, 3894-98.
- Patané G., Caporarello N., Marchetti P., Parrino C., Sudano D., Marselli L., Vigneri R., Frittitta L., 2013. Adiponectin increases glucose-induced secretion through the activation of lipid oxidation. *Acta Diabetologica* 50, 851-857.
- Pena C., Suarez L., Bautista I., Montoya J.A., Juste M.C., 2008. Relationship between analytic values and canine obesity. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 92, 324-325.
- Perez-Sanchez A.P., Del-Angel-Caraza J., Quijano-Hernandez I.A., Barbosa-Mireles M.A., 2015. Obesity-hypertension and its relation to other disease in dogs. *Veterinary Research Communications* 39, 45-51.
- Pierroz D.D., Aebi A.C., Huhtaniemi I.T., Aubert M.L., 1999. Many LH peaks are needed to physiologically stimulate testosterone secretion: modulation by fasting and NPY. *Am J Physiol* 276:603-10.
- Piñeiro R., Iglesias M.J., Gallego R., Raghay K., Eiras S., Rubio J., Diéguez C., Gualillo O., González-Juanatey J.R., Lago F., 2005. Adiponectin is synthesized and secreted by human and murine cardiomyocytes. *FEBS Lett*. 2005 Sep 26;579(23):5163-9.
- Poli G., Cocilovo A., 1998. *Microbiologia e immunologia veterinaria*.

- Rabe K., Lehrke M., Parhofer K.G., Broedl U.C., 2008. Adipokines and insulin resistance. *Molecular Medicine* 14, 741-751.
- Raffan E., Dennis R.J., O'Donovan C.J., Brcker J.M., Scott R.A., Smith S.P., Withers D.J., Wood C.J., Conci E., Clements D.N., Summers K.M., German A.J., Mellersh C.S., Arendt M.L., Iyemere V.P., Withers E., Soder J., Wernersson S., Andersson G., Lindblad-TOH K., Yeo G.S.H., O'Rahilly S., 2016. A Deletion in the Canine POMC Gene is associated with weight and appetite in obesity-prone Labrador Retriever Dogs. *Cell Metab* 23, 893-900.
- Rakatzi I., Mueller H., Ritzeler O., Tennagels N., Eckel J., 2004. Adiponectin counteracts cytokine and fatty acid-induced apoptosis in the pancreatic beta-cell line INS-1. *Diabetologia*, 2004; 42(6):785-788.
- Ravussin E., Heilbronn L.K., Smith S.R., 2003. The insulin-sensitizing role of the fat derived hormone adiponectin. *Curr Pharm Des*; 9:1411-8.
- Remillard R.L., 2005. Obesity: A disease to recognize and manage. In Ettinger SJ, Feldman EC eds. *Textbook of Veterinary Internal Medicine: diseases of the dog and cat*, vol.1 6th.
- Respondek F., Swanson K.S., Belsito K.R., Vester B.M., Wagner A., Istasse L., Diez M., 2008. Short-chain fructooligosaccharides influence insulin sensitivity and gene expression of fat tissue in obese dogs. *J Nutr*. 2008 Sep;138(9):1712-8.
- Robertson I.D., 2003. The association of exercise, diet and other factors with owner-perceived obesity in private owned dogs from metropolitan Perth W.A., *Preventive Veterinary Medicine* 58, 75-83.
- Rocchini A.P., Moorehead C.P., Deremer S., Bondie S., 1989. Pathogenesis of weight-related pressure changes in blood-pressure in dogs. *Hypertension* 13, 922-928.
- Rocchini A.P., Moorehead C.P., Wentz E., Deremer S., 1987. Obesity-induced hypertension in the dog. *Hypertension* 9:64-68.
- Runge J.J., Biery D.N., Lawler D.F., Gregor T.P., Evans R.H., Kealy R.D., Szabo S.D., Smith G.K., 2008. The effects of lifetime food restriction on the development of osteoarthritis in the canine shoulder. *Vet Surg*. 2008 Jan;37(1):102-7.
- Ryan V.H., German A.J., Wood I.S., Hunter L., Morris P., Trayhurn P., 2008. Gene expression and secretion by canine adipocytes in primary culture: upregulation by the inflammatory mediators LPS and TNF-alpha. *Hormone Metab Res*; 40:861-8.

- Sagawa M.M., Nakadomo F., Honjoh T., Ishioka K., Saito M., 2002. Correlation between plasma leptin concentration and body fat content in dogs. *American Journal of Veterinary Research* 63, 7-10.
- Santini F., Maffei M., Pelosini C., Salvetti G., Scartabelli G., Pinchera A., 2009. Melanocortin-4-receptor mutations in obesity. *Adv Clin Chem* 48:95-109.
- Saunders L.Z., Rickard C.G., 1952. Craniopharyngioma in a dog with apparent adiposogenital syndrome and diabetes insipidus. *Cornell Vet* 42:490
- Saunders L.Z., Stephenson H.C., McEntee, 1951. Diabetes insipidus and adiposogenital syndrome in a dog due to an infundibuloma. *Cornell Vet* 41:445.
- Schrawen P., Walder K., Ravussin E., 1999. Human uncoupling proteins and obesity. *Obes Res* 7,97-105
- Schulze P.C., Kratzsch J., Linke A., Schoene N., Adams V., Gielen S., Erbs S., Moebius-Winkler S., Schuler G., 2003. Elevated serum levels of leptine and soluble leptin receptor in patient with advanced chronic heart failure. *Eur J Heart Fail*, 5(1):33-40.
- Serisier S1, Leray V, Poudroux W, Magot T, Ouguerram K, Nguyen P., 2008. Effects of green tea on insulin sensitivity, lipid profile and expression of PPARalpha and PPARgamma and their target genes in obese dogs. *Br J Nutr*. 2008 Jun;99(6):1208-16
- Shimizu H., Shimomura Y., Nakanishi Y., Futawari T., Ohtani K., Sato N., Mori M., 1997. Estrogen increases in vivo leptin production in rats and human subjects. *J Endocrinol* 154, 285-92.
- Shore S.A., 2008. Obesity and asthma: possible mechanism. *J Allergy Clin Immunol* 121, 1087-93.
- Sikaris K.A., 2004. The clinical biochemistry of obesity. *Clin Biochem Rev* 25, 165-81.
- Simopoulou T., Malizos K.N., Iliopoulos D., Stefanou N., Papatheodorou L., Ioannou M., Tsezou A., 2007. Differential expression of leptin and leptin's receptor isoform (Ob-Rb) mRNA between advanced and minimally affected osteoarthritic cartilage; effect on cartilage metabolism. *Osteoarthritis Cartilage* 15, 872-83.
- Simpson J.W., Anderson R.S., Markwell P.J., 1993. *Clinical Nutrition of the Dog and Cat*. Oxford, Boston Blackwell Scientific pp 56-95.

- Sinha M.K., Sturis J., Ohannesian J., Magosin S., Stephens T., Heiman M.L., Polonsky K.S., Caro J.F., 1996. Ultradian oscillations of leptin secretion in humans. *Biochem Biophys Res Commun.* 1996 Nov 21;228(3):733-8.
- Slater M.R., Robinson L.E., Zoran D.L. et al., 1995. Diet and exercise patterns in pet dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1995; 207:186-190.
- Son H.R., d'Avignon D.A., Laflamme D.P., 1998. Comparison of dual x-ray absorptiometry and measurement of total body water content by deuterium oxide dilution for estimating body composition in dog. *Am J Vet Res*, 59:529-532.
- Sonta T., Inoguchi T., Tsuobouchi H., Sekiguchi N., Kobayashi K., Matsumoto S., Utsumi H., Nawata H., 2004. Evidence for contribution NAD(P)H oxidase to increased oxidative stress in animal models of diabetes and obesity. *Free Radic Biol Med* 37, 115-23.
- Sood A., Shore S.A, 2013. Adiponectin, leptin and resistin in asthma: basic mechanisms through population studies, *Journal of Allergy* article ID 785835,15 pages
- Sperling L.S., Mechanick J.I., Neeland I.J., Herrick C.J., Despres J.P., Ndumele C.E., Vijayaraghavan K., Handelsman Y., Puckrein G.A., Araneta M.R. et al., 2015. The CardioMetabolic Health Alliance: Working toward a new care model for the metabolic syndrome. *Journal of the American College of Cardiology* 66, 1050-67.
- Stepan C.M., Bailey S.T., Bhat S., Brown E.J., Banerjee R.R., Wright C.M., Patel H.R., Ahima R.S., Lazar M.A., 2001. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature* 409,307-12.
- Sukkar M.B., Hughes J.M., Armour C.L., Johnson P.R., 2001. Tumour necrosis factor-alpha potentiates contraction of human bronchus in vitro. *Respirology*; 6:199-203.
- Sunvold G.D., Tetrack M.A., Davenport G.M., Bouchard G.F., 1998. Carnitine supplementation promotes weight loss and decreased adiposity in the canine. *Proceedings of the XXIII World Small Animal Veterinary Association*, p.746.
- Teichholz LE, Kreulen T, Herman MV, Gorlin R, 1976. Problems in echocardiographic volume determinations: echocardiographic-angiographic correlations in the presence of absence of asynergy. Am J Cardiol. 1976 Jan;37(1):7-11.
- Thomas P.S., 2001. Tumour necrosis facton-alpha: the role of this multifunctional cytokine in asthma. *Immunology and Cell Biology* 79, 132-140.

- Tropf M., Nelson O.L., Lee P.M., Weng H.Y., 2017. Cardiac and Metabolic Variables in Obese Dogs. *J Vet Intern Med.* 2017 Jul;31(4):1000-1007.
- Truett A.A., Borne A.T., Monteiro M.P., West D.B., 1998. Composition of dietary fat affects blood pressure and insulin responses to dietary obesity in the dog. *Obes Res* 6, 137-46.
- Tvarijonaviciute A., Ceron J.J., Holden S.L., Cuthbertson D.J., Biourge V., Morris P.J., German A.J., 2012b. Obesity-related metabolic dysfunction in dogs: A comparison with human metabolic syndrome. *BMC Veterinary Research* 8, 147.
- Tvarijonaviciute A., Tecles F., Martinez-Subiela S., Ceron J.J., 2012a. Effect of weight loss on inflammatory biomarkers in obese dogs. *The Veterinary Journal* 193, 570-2
- Ugadawa C., Tada N., Asano J., Ishioka K., Bonkobara M., Tsuchida S., Omi T., 2014. The genetic association study between polymorphisms in uncoupling protein 2 and uncoupling protein 3 and metabolic data in dogs. *BMC Res Notes* 7, 904.
- Ulbricht TLV, Southgate DAT, 1991. Coronary heart disease: seven dietary factors. *The Lancet* 338:985-92
- Umeda T., Bauer J.E., Otsuji K., 2006. Weight loss effect of dietary diacylglycerol in obese dogs. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*. 2006 Jun;90(5-6):208-15.
- Urakawa H., Katsuki A., Sumida Y., Gabazza E.C., Murashima S., Morioka K., Maruyama N., Kitagawa N., Tanaka T., Hori Y., Nakatani K., Yano Y., Adachi Y., 2003. Oxidative stress is associated with adiposity and insulin resistance in men. *J Clin Endocrinol Metab* 88, 4673-6.
- USDA, 2015. National Nutrient Database for Standard Reference, Release 28
- Van Ginneken V., Sitnyakowsky L., Jeffery J.E., 2009. Infectobesity: viral infections (especially with human adenovirus-36) may be a cause of obesity. *Med Hypotheses* 72, 383-8.
- Van Winkle T.J., Bruce E., 1993. Thrombosis of the portal vein in eleven dogs. *Vet Pathol* 30, 28-35.
- Verkest K.R., Rand J.S., Fleeman L.M., Morton J.M., 2012. Spontaneously obese dogs exhibit greater postprandial glucose, triglyceride, and insulin concentrations than lean dogs. *Domest Anim Endocrinol.* 2012 Feb;42(2):103-12
- Verkest K.R., Rand J.S., Fleeman L.M., Morton J.M., Richards A.A., Rose F.J., Whitehead J.P., 2011. Distinct adiponectin profiles might contribute to differences in susceptibility to type 2 diabetes in dogs and humans. *Domest Anim Endocrinol.* 2011 Aug;41(2):67-73

- Verlaeten O., Griffond B., Khuth S.T., Giraudon P., Akaoka H., Belin M.F., Fellmann D., Bernard A., 2001. Down regulation of melanin concentrating hormone in virally induced obesity. *Mol Cell Endocrinol.* 2001 Jul 5;181(1-2):207-19.
- Wabitsch M., Blum W.F., Muche R., Braun M., Hube F., Rascher W., Heinze E., Teller W., Hauner H., 1997. Contribution of androgens to the gender difference in leptin production in obese children and adolescents. *J Clin Invest* 100, 808-13.
- Wabitsch M., Jensen P.B., Blum W.F., Christoffersen C.T., Englaro P., Heinze E., Rascher W., Teller W., Tornqvist H., Hauner H., 1996. Insulin and cortisol promote leptin production in cultured human fat cells. *Diabetes* 45, 1435-1438.
- Wadden T.A., Treatment of obesity by moderate and severe caloric restriction. Result of clinical research trials. *Ann. Intern. Med.*, 119, 688-693.
- Wakshlag J.J., Struble A.M., Levine C.B., Bushey J.J., Laflamme D.P., Long G.M., 2011. The effects of weight loss on adipokines and markers of inflammation in dogs. *The British Journal of Nutrition*, 106,1: S11-14.
- Wang P., Mariman E., Renes J., Keijer J., 2008. The secretory function of adipocytes in the physiology of white adipose tissue. *J Cell Physiol* 2008; 216:3-13.
- Weisbrode S.E., 2006. Bone and joints. In: McGavin M.D., Zachary J.F., *Pathologic Basis of Veterinary Disease* Edition 4.
- Wilkinson M.J.A., Mcewann A., 1991. Use of ultrasound in the measurement of subcutaneous fat and prediction of total body fat in dogs. *Journal of Nutrition*, 121, S47-S50.
- Williams G.D., Newberne P.M., 1971. Decreased resistance to salmonella infection in obese dogs. *Fed. Proc.* 30, 572.
- Wolf G., 2003. After all those years: renal consequences of obesity. *Nephrol Dial Transplant* 18, 2471-4.
- Woloski B.M., Smith E.M., Meyer W.J., Fuller G.M., Blalock J.E., 1985. Corticotropinreleasing activity of monokines. *Science* 230: 1035-7.
- Wren A.M., Small C.J., Ward H.L., Murphy K.G., Dakin C.L., Taheri S., Kennedy A.R., Roberts G.H., Morgan D.G., Ghatei M.A., Bloom S.R., 2000. The novel hypothalamic peptide ghrelin stimulates food intake and growth hormone secretion. *Endocrinology.* 2000 Nov;141(11):4325-8.

- Wren J.A., Gosselin J., Sunderland S.J., 2007. Dirlotapide: a review of its properties and role in the management of obesity in dogs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*; 30:11-16.
- Wu S., Divall S., Nwaopara A., Radovick S., Wondisford F., Ko C., Wolfe A., 2014. Obesity-induced infertility and hyperandrogenism are corrected by deletion of the insulin receptor in the ovarian theca cell. *Diabetes*, 2014 Apr; 63(4):1270-82.
- Xu H., Barnes G.T., Yang Q., Tan G., Yang D., Chou C.J., Sole J., Nichols A., Ross J.S., Tartaglia L.A., Chen H., 2003. Chronic inflammation in fat play a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J Clin Invest* 112: 1821-1830.
- Yamauchi T., Kadowaki T., 2008. Physiological and pathophysiological roles of adiponectin and adiponectin receptors in the integrated regulation of metabolic and cardiovascular diseases. *Int J Obes*, 2008; 32:S13-S18.
- Yang Q., Graham T.E., Mody N., Preitner F., Peroni O.D., Zabolotny J.M., Kotani K., Quadro L., Kahn B.B., 2005. Serum retinol binding protein 4 contributes to insulin resistance in obesity and type 2 diabetes. *Nature*. 2005 Jul 21;436(7049):356-62.
- Yeh S.S., Schuster M.W., 1999. Geriatric cachexia: the role of cytokines. *Am J Clin Nutr* 70, 183-97.
- Yvan-Charvet L., Quignard-Boulangue A., 2011. Role of adipose tissue renin-angiotensin system in metabolic and inflammatory diseases associated with obesity. *Kidney Int.* 79, 162-8.
- Zenf R., Zhang Y., Du P., 2014. The SNPs of Melanocortin 4 Receptor (MC4R) associated with body weight in Beagle dogs. *Exp Anim* 63. 73-8.
- Zicarelli L., Campanile G. (2001). *La storia del bufalo. Mozzarelle di bufala*. Ed. Slow Food.