

AVALIAÇÃO DO PERFIL HEMATOLÓGICO E BIOQUÍMICO DE GATOS OBESOS

EVALUATION OF THE HEMATOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PROFILE OF OBESE CATS

¹ RAMOS, R. C.; ¹ MARTINS, T. O.; ¹ POSSIDONIO, G.; ¹ OLIVEIRA, P.L.; ¹ COSTA, L.R.; ¹ BOLUSCO, M.R.M.; ¹ ALMEIDA, B. F. M.; ¹ MARQUES, M.G.

¹ Departamento de Medicina Veterinária, Centro Universitário das Faculdades Integradas de Ourinhos,

RESUMO

A obesidade é uma doença caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura, a qual acomete cerca de 35% da população felina. Além de diminuir a sobrevida, a obesidade está associada ao desenvolvimento de diversas enfermidades secundárias, como alterações cardiovasculares, diabetes mellitus, lipídose hepática, doenças do trato urinário inferior e neoplasias. Em outras espécies, a literatura mostra que a obesidade está relacionada às alterações hematológicas e bioquímicas devido às mudanças dos diversos metabólitos sanguíneos e ao estado pró-inflamatório. Entretanto, mediante a literatura consultada, não há informações a respeito dos efeitos da obesidade no perfil hematológico e bioquímico de gatos domésticos (*Felis catus*). Portanto, o presente estudo tem como objetivo avaliar o perfil hematológico e bioquímico em diferentes graus de obesidade felina.

Formatado: Espaço Depois de: 0 pt

Palavras chaves: Obesidade. Hemograma. Exames laboratoriais. *Felis catus*

Formatado: Fonte: 10 pt

ABSTRACT

Obesity is a disease characterized by excessive fat accumulation, which affects about 35% of the feline population. Besides decreasing survival, obesity is also associated with the development of several secondary diseases, such as cardiovascular disorders, diabetes mellitus, hepatic lipidosis, lower urinary tract diseases and neoplasms. In other species, the literature shows that obesity is related to hematological and biochemical changes due to alterations in the various blood metabolites and the proinflammatory state. However, according to the reviewed literature, there is no information regarding the effects of obesity on the hematological and biochemical profile of cats. Therefore, the present study aims to evaluate the hematological and biochemical profile in different degrees of feline obesity.

Keywords: Obesity. Blood count. Laboratory tests . *Felis catus*

Formatado: Espaço Depois de: 0 pt

Formatado: Espaçamento entre linhas: simples, Padrão: Transparente (Plano de Fundo 1)

Formatado: Espaço Depois de: 0 pt

INTRODUÇÃO

A obesidade é uma doença caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura, sendo resultado da alteração ou desequilíbrio na ingestão de nutrientes, ou por distúrbios dos gastos energéticos levando, conseqüentemente, ao ganho de peso (GUIMARÃES & TUDURY 2006). Sabe-se que o sedentarismo e a alimentação inadequada são efeitos indesejáveis do processo de domesticação da espécie felina. A associação destas duas condições reflete em aproximadamente 25 a 35% da

população de gatos sob condições de sobrepeso ou obesidade (BUTTERWICK, 2000; MORGANTE, 1999; MENDES et al., 2013; GERMAN, 2010; ZORAN, 2009).

Sob o ponto de vista hematológico, em humanos e cães obesos, as principais alterações hematológicas são o aumento de plaquetas, neutrófilos, linfócitos e monócitos, sendo relacionados a níveis elevados de citocinas circulantes, devido à condição inflamatória persistente causada pela obesidade causa (ZALDIVAR et al., 2006; NEMET et al., 2005). Além disso a obesidade pode levar a hiperinsulinemia, aumento dos níveis de colesterol total e LDL (*low density lipoprotein*), baixos níveis de HDL (*high density lipoprotein*) e elevação dos triglicérides (MCCANCE et al., 1994; FREEDMAN et al., 1999; JOHNSON, 2005).

Além disso, cães obesos podem apresentar níveis elevados de alanina aminotransferase (ALT), sendo essa utilizada para o diagnóstico de lesão hepatocelular, em decorrência do aumento do teor de gordura nos hepatócitos (LEWIS et al., 1994). Em outro estudo, foi observado que na obesidade canina, há aumento da massa tecidual em diversos órgãos, inclusive nos rins, o que pode elevar a pressão hidrostática, afetando a reabsorção tubular resultando no comprometimento da homeostase. Esses eventos acarretam em alterações dos diversos metabólitos sanguíneos como ureia, glicose, creatinina, albumina, triglicérides, colesterol total e HDL (HALL, 2003).

Apesar de haver estudos em algumas espécies, até o momento, as alterações hematológicas e bioquímicas de gatos obesos não foram totalmente elucidadas. Portanto, o presente tem como objetivo avaliar o perfil hematológico e bioquímico em gatos obesos e sobrepeso, possibilitando o melhor entendimento dos mecanismos fisiopatológicas da obesidade felina.

MATERIAIS E METODOS

Após avaliação clínica e laboratorial, foram selecionados para o estudo 30 felinos distribuídos igualmente em três grupos:

Grupo controle: foram selecionados 10 felinos adultos com CEC 4-5 considerados clinicamente saudáveis após realização de exame clínico completo e avaliação laboratorial (hemograma e perfil bioquímico com concentração de proteína total, albumina, bilirrubina total, GGT, ALT, ureia, creatinina, glicose, colesterol total e triglicérides), em faixa etária semelhante aos animais do grupo sobrepeso e obesos.

Grupo sobrepeso: foram selecionados 10 felinos adultos com histórico de apresentar CEC 6-7 há pelo menos um ano, após realização de exame clínico completo e avaliação laboratorial.

Grupo obeso: foram selecionados 10 felinos adultos com histórico de apresentar CEC 8-9 há pelo menos um ano, após realização de exame clínico completo e avaliação laboratorial.

Os critérios de Laflamme (1997) para avaliação da CEC estão descritos na tabela a seguir:

Tabela 1. Condição de escore corporal (CEC) em felinos segundo Laflamme (1997).

CEC	Parâmetro
1	<i>Abaixo do ideal</i> - Costelas visíveis em gatos de pêlo curto. Nenhuma gordura palpável. Região abdominal muito retraída. Vértebras lombares e asas do ílio facilmente palpáveis.
2	<i>Abaixo do ideal</i> - Costelas facilmente visíveis em gatos de pêlo curto. Vértebras lombares aparentes. Região abdominal retraída. Nenhuma gordura palpável.
3	<i>Abaixo do ideal</i> - Costelas facilmente palpáveis com um mínimo de cobertura de gordura. Vértebras lombares aparentes. Cintura aparente após gradil costal. Gordura abdominal mínima.
4	<i>Condição ideal</i> - Costelas palpáveis com cobertura mínima de gordura. Cintura aparente após gradil costal, gordura abdominal mínima.
5	<i>Condição ideal</i> - Costelas palpáveis com leve cobertura de gordura. Cintura aparente após gradil costal. Panículo de gordura abdominal mínimo.
6	<i>Acima do ideal</i> - Costelas palpáveis com leve excesso de gordura. Cintura e gordura abdominal distinguíveis, mas não óbvias. Aumento do panículo de gordura abdominal.
7	<i>Acima do ideal</i> - Costelas não facilmente palpáveis com cobertura de gordura moderada. Cintura pobremente discernível. Arredondamento visível do abdômen. Panículo de gordura abdominal moderado.
8	<i>Acima do ideal</i> - Costelas não palpáveis com excesso de cobertura

de gordura. Cintura ausente. Arredondamento visível do abdome com panículo de gordura abdominal proeminente. Depósitos de gordura sobre a região lombar.

9 *Acima do ideal* - Costelas não palpáveis e densa cobertura de gordura. Intenso depósito de gordura sobre a região lombar, face e membros. Distensão do abdome sem cintura. Depósitos de gordura abdominais extensos.

A avaliação do escore corporal dos gatos que foram incluídos no estudo foi realizada sempre pela mesma pessoa, no caso pela própria aluna de iniciação científica, que recebeu treinamento adequado e teve a supervisão e orientação do coordenador do projeto de pesquisa e do professor de Clínica Médica de Pequenos Animais Marcel Gambin Marques no momento da avaliação do escore corporal.

Para inclusão nos grupos citados anteriormente, todos os animais receberam como alimentação exclusivamente ração comercial com padrões semelhantes de constituintes.

Foram selecionados animais de ambos os sexos, castrados ou não castrados e adultos com faixa etária entre 2 a 10 anos de idade. Parâmetros como idade, sexo e ser ou não castrado dos animais com CEC acima do ideal (sobrepeso e obeso), foram pareados com os animais do grupo controle. Dessa forma, os grupos controle, obesidade e sobrepeso foram homogêneos quanto aos critérios citados.

Todos os animais eram provenientes de ambiente domiciliar. Entretanto, foram triados no Hospital Escola do Centro Universitário das Faculdades Integradas de Ourinhos, conforme os critérios de inclusão e exclusão do estudo.

Não foram incluídos no estudo animais tratados com medicamentos que favoreçam a obesidade, como acetato de megestrol, cortisona, fenobarbital e primidona, ou substâncias antioxidantes e/ou anti-inflamatórias.

Análises hematológicas e bioquímicas

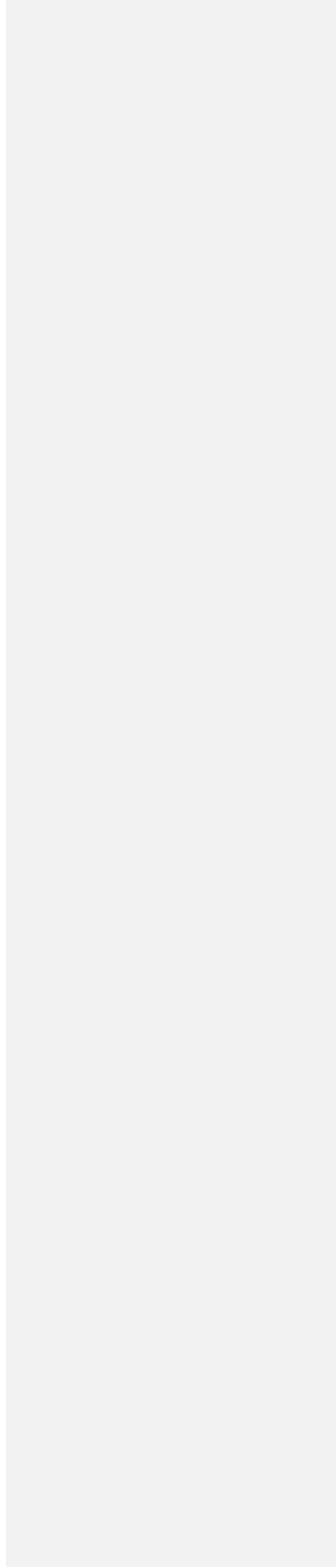
O sangue foi colhido por punção jugular (cerca de 5 mL) e acondicionado em tubos com K₂EDTA (BD Vacutainer®, Becton-Dickson, New Jersey, USA) para realização do hemograma, com fluoreto de sódio (Injex Vácuo, Injex Indústrias

Cirúrgicas, Ourinhos, SP, Brasil) para determinação bioquímica de glicose e em tubo com ativador de coágulo (BD Vacutainer®, Becton-Dickson, New Jersey, USA) para obtenção de soro para demais análises. O sangue fluoretado foi imediatamente centrifugado (3.000 rpm por 10 min) e o tubo destinado à obtenção de soro foi centrifugado 20 min após a colheita. Todo o processamento ocorreu na ausência de luz e as amostras foram armazenadas a -20°C sob proteção da luz até o momento das determinações por um período máximo de 15 dias.

Para realização do hemograma, as contagens de hemácias, leucócitos, plaquetas e determinação de hemoglobina foram realizadas em contador automatizado de células veterinário (ABX Micros ESV 60, Paris, França). O volume globular foi determinado pelo método do microcapilar de Strumia (11.400 rpm por 5 minutos) e a contagem diferencial de leucócitos juntamente com avaliação morfológica de hemácias, leucócitos e plaquetas, foi realizada em esfregaço sanguíneo corado com corante hematológico comercial (Instant-Prov, Newprov, Pinhais, PR, Brasil), seguindo-se recomendações de Jain (1986).

As determinações bioquímicas foram realizadas em fotocolorímetro semiautomatizado (BIO 2000, BioPlus, Barueri, SP, Brasil) utilizando conjunto de reativos comerciais (Labtest Diagnóstica SA, Lagoa Santa, MG, Brasil) de acordo com as recomendações do fabricante. As determinações bioquímicas foram realizadas em duplicata a 37°C após calibração com calibrador (Calibra H, Labtest Diagnóstica SA, Lagoa Santa, MG, Brasil) e verificação com controles comerciais níveis I (Qualitrol 1H, Labtest Diagnóstica SA, Lagoa Santa, MG, Brasil) e II (Qualitrol 2H, Labtest Diagnóstica SA, Lagoa Santa, MG, Brasil). Os teores de colesterol HDL foram determinados após precipitação com ácido fosfotúngstico e cloreto de magnésio com posterior determinação de colesterol. Os níveis de colesterol total e triglicerídeos serão determinados por métodos enzimáticos-Trinder, glicose pelo método glicose oxidase-Trinder, ALT e AST por metodologia cinética ultravioleta (UV), albumina por método colorimétrico com verde de bromocresol, cálcio total pelo método colorimétrico cresoltaleína, creatinina por método colorimétrico do picrato alcalino – Jaffé, FA pelo método cinético de Bowers e McComb modificado, fósforo por determinação UV segundo método Daly e Ertingshausen modificado, GGT pelo método de Szasz modificado, proteínas totais pelo método colorimétrico do biureto e ureia segundo metodologia enzimática UV. O teor de globulinas foi obtido a partir da subtração de albumina das proteínas totais.,

|



Análise estatística

As variáveis foram testadas quanto a normalidade (Teste de Shapiro-Wilk) e homocedasticidade (teste de Bartlett). As diferenças entre os grupos foram verificadas pelos testes de ANOVA e pós-teste de Dunn ou Kruskal-Wallis com pós-teste de Tukey. Todas as análises estatísticas foram efetuadas em programa computacional (GraphPad Prism, v.6.00 para Windows, GraphPad Software, La Jolla, CA, USA, www.graphpad.com), sendo considerados significantes quando $p < 0,05$.

RESULTADO E DISCUSSÃO

Até o momento foram avaliados um total de 27 animais, os quais 11 pertenciam ao grupo controle, 7 ao sobrepeso e 9 ao obesos. Desses 14 eram machos e 12 fêmeas onde apenas um não era castrado. A média da idade dos animais está entre 3 a 5 anos.

Não houve diferença significativa entre os grupos para nenhum dos parâmetros hematológicos e bioquímicos estudados (Tabela 2).

Brunetto (2010) analisa que a obesidade confere um caráter inflamatório resultando no aumento das concentrações séricas das adipocitocinas, leptina, TNF α e IL-6. Portanto, esperava-se que os animais estudados apresentassem um quadro de leucocitose devido a linfopoiose e granulopoiose elevadas, essa também pode ocasionar elevação da contagem plaquetária (RADAKOVICH et al., 2017; RAFAJ et al., 2017).

Alguns estudos descrevem um aumento significativo do colesterol bem como triglicerídeos em animais obesos e conseqüentemente a diminuição do HDL sendo esse a porção saudável (BARRIE et al., 1993; BERNE e LEVY, 1998). A não alteração dos níveis de colesterol bem como triglicerídeos pode estar relacionada a faixa etária dos animais avaliados, pois um estudo realizado por SAFADI (2018) com outra espécie foi possível analisar que animais obesos jovens apresentavam níveis próximos aos valores de referências, visto que os níveis também são mais expressivos em animais cronicamente obesos (JEUSETTE et al., 2005).

Com o aumento do escore corporal sabe-se que ocorre a deposição de gordura no fígado podendo ocorrer degeneração gordurosa, levando ao aumento

das enzimas hepáticas. Portanto, esperava-se um aumento das enzimas hepáticas nos animais estudados.

Segundo Hall (2003), a deposição de gordura em diversos órgãos, como os rins, leva ao aumento da pressão hidrostática afetando a capacidade de reabsorção renal de sódio, fazendo com que ocorra o aumento do volume circulatório levando a alterações na hemostasia acarretando alterações nos metabolitos sanguíneos como glicose , ureia , creatinina , albumina , porém os valores se encontraram dentro da normalidade.

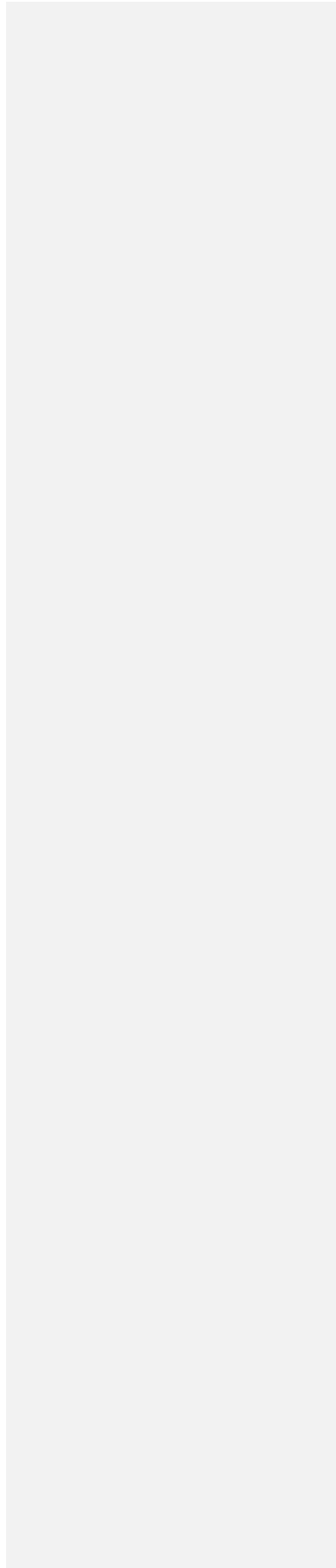
Quanto a glicose, os valores estão dentro da referência, isso pode ser explicado por um estudo realizado em cães que sugeriu que o aumento da glicose pode ser gradativo e o mesmo pode estar relacionado com grau de obesidade bem como com o tempo em que o animal se encontra nesta condição (ADOLPHE et al, 2014).

Tabela 2 - Parâmetros hematológicos e bioquímicos (média ± desvio-padrão) dos gatos de acordo com score corporal (n=27).

Variáveis	Controle	Sobrepeso	Obeso	Referência
Hemograma				
Volume globular (%)	42,96 ± 3,86	42 ± 4,03	42,82 ± 4,65	24 – 45
Hemácias (x10 ¹² /L)	9,52 ± 0,82	9,49 ± 1,30	9,36 ± 1	5 – 10
Hemoglobina (g/dL)	13,65 ± 1,04	13,32 ± 0,97	13,64 ± 1,35	8 – 15
VCM (fL)	45,18 ± 1,47	44,80 ± 2,95	45,66 ± 3,35	39 – 55
CHCM (%)	32,30 ± 0,86	31,85 ± 1,13	31,90 ± 0,56	31 – 35
Leucócitos totais (x10 ⁹ /L)	8,13 ± 2,94	5,45 ± 2,59	10,76 ± 15,18	5,5 - 19,5
Neutrófilos (x10 ⁶ /L)	4.726 ± 2.370	2.817 ± 1.171	3.275 ± 967	2.500 - 12.500
Linfócitos (x10 ⁶ /L)	2.688 ± 1.786	1.929 ± 1.371	2.240 ± 852	1.500 – 7.000
Monócitos (x10 ⁶ /L)	249,73 ± 187,78	174,71 ± 146,44	191,78±113,98	0 – 850
Eosinófilos (x10 ⁶ /L)	444 ± 279	520,29 ± 288,74	265,89±116,98	0 – 1.500
Plaquetas (x10 ⁹ /L)	323,81 ± 84,06	394,71 ± 241,74	318,66 ± 129,58	300 – 800
PPT (g/dL)	7,49 ± 0,42	7,65 ± 0,60	7,68 ± 0,52	6 – 8
Bioquímica plasmática				
Colesterol (mg/dL)	124,18 ± 34,84	141,29 ± 48,41	103,23 ± 21,98	95 – 130
HDL	62,57 ± 10,11	74 ± 18,37	70,46 ± 12,86	
Triglicerídeos (mg/dL)	49,11 ± 18,17	54,18 ± 20,71	63,11 ± 24,90	10 – 114
Glicose (mg/dL)	88,90 ± 19,20	121,43 ± 64,72	94,06 ± 13,30	73 – 134
Proteína Total	6,26 ± 0,83	6,23 ± 0,49	6,21 ± 0,91	5,4 – 7,8
Albumina (g/dL)	2,58 ± 0,21	2,64 ± 0,41	2,65 ± 0,16	2,1 – 3,3
Creatinina (mg/dL)	1,67 ± 0,37	1,74 ± 0,34	1,75 ± 0,37	0,8 – 1,8
Uréia (mg/dL)	58,18 ± 13,35	59,57 ± 8,08	57,94 ± 7,61	42,7 – 64,1
FA (UI/L)	29,96 ± 14,77	31 ± 5,78	33,67 ± 12,16	25 – 93
AST (UI/L)	53,08 ± 25,69	41,02 ± 13,18	41,12 ± 5,92	26 – 43
ALT (UI/L)	59,35 ± 45,76	40,45 ± 13,87	29,94 ± 7,61	26 – 43
Cálcio (mg/dL)	10,75 ± 1,24	9,19 ± 1,58	10,10 ± 1,24	6,2 – 10,2
GGT (UI/L)	0,48 ± 0,54	0,82 ± 0,40	0,22 ± 0,26	1,3 – 5,1
Globulina (g/L)	3,24 ± 1,19	3,57 ± 0,58	3,56 ± 0,89	2,6 – 5,1
Fósforo (mg/dL)	5,40 ± 1,62	4,78 ± 1,12	4,41 ± 0,86	4,5 – 5,1

ALT, alanina aminotransferase; AST, aspartato aminotransferase; CHCM, concentração hemoglobínica corpuscular média; FA, fosfatase alcalina; GGT, gama glutamiltransferase; PPT, proteína plasmática total VCM, volume corpuscular médio.

|



CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados parciais inferem que a obesidade e o sobrepeso não alteram os parâmetros hematológicos e bioquímicos na espécie felina.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADOLPHE, L.J ; SILVER, I.T; CHILDS, H ; DREW, M.D ; WEBBER, L.P. Short-term obesity results in detrimental metabolic and cardiovascular changes that may not be reversed with weight loss in an obese dog model. **British Journal of Nutrition**. v. 44, n. 11, p. 647–656 , 2014.
- BARRIE, J.; WATSON, T.D.G.; STEAR, M. J.; NASH, A.S. Plasma cholesterol and lipoprotein concentrations in the dog: effect of age, breed, gender and endocrine disease. **Journal of Small Animal Practice**, v. 34, n. 10, p. 507 -512, 1993.
- BERNE, M.R.; LEVY, M.N. **Fisiologia**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koognan, 1998. 1034p.
- BRUNETTO, M.A.; **Perda de peso , indicadores do metabolismo de carboidratos e produção de citocinas em cães**. Tese (Doutorado em Clínica Médica) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus Jaboticabal , São Paulo, 2010.
- BUTTERWICK, R. F. How fat is that cat? **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v.2, p.91-94, 2000.
- FREEDMAN, D.S.; DIETZ, W.H.; SRINIVASAN, S.R.; BERENSON, G.S.; The relation of overweight to cardiovascular risk factors among children and adolescents: The Bogalusa Heart Study. **Pediatrics**, v.103, n. 11, p.75-82, 1999.
- GERMAN, A.J.; HOLDEN, S.L.; BISSOT, T.; MORRIS, P.J.; BIOURGE, V. Use of starting condition score to estimate changes in body weight and composition during weight loss in obese dogs. **Research in Veterinary Science**. v. 87, p. 249-254, 2009.
- GUIMARÃES, A.L.N; TUDURY, E.A. Etiologias, consequências e tratamentos de obesidades em cães e gatos - revisão. **Veterinária Notícias**, v.12, p.29-41, 2006.
- HALL, J.E.; BRANDS, M.W.; DIXON, W.N.; SMITH, M.J. Obesity-induced hypertension: renal function and systemic hemodynamics. **Hypertension**, v.22, p.292-299, 1993.
- JEUSETTE, I.C; LHOEST, E.T; ISTASSE, L.P; DIEZ, M.O. Influence of obesity on plasma lipid and lipoprotein concentrations in dogs. **American Journal of Veterinary Research**. v.66, n.1, p.81-86 , 2005.

Formatado: À esquerda

- | JOHNSON, M.C. Hyperlipidemia disorders in dogs. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v.27, p.361-370, 2005.
- | LEWIS, L.D; MORRIS, M.L; HAND, M.S. Obesity. In: LEWIS D; MORRIS, M.L.; HAND, M.S. **Small Animal Clinical Nutrition III**. Topeka: Mark Morris Institute, v.6, p.1-39, 1994.
- | LOPES, S.T.A; BIONDO ,A.W; SANTOS, A.P. **Manual de Patologia Clínica Veterinária**. 3 Ed. Santa Maria: UFSM, 204 p, 2007.
- | MCCANCE, D. R.; PETTITT, D.J.; HANSON, R.L.; JACOBSSON, L.T.H.; BENNEH, P.H.; KNOWLER, W.C. Glucose, insulin concentrations and obesity in childhood and adolescence as predictor of NIDDM. **Diabetologia**, v.37, p.617-623, 1994.
- | MENDES, F.F.; RODRIGUES, D.F.; PRADO, Y.C.L. et al. Obesidade em felinos. **Enciclopédia Biosfera**, v.19, n.16, p.1602-1625, 2013.
- | MORGANTE, M. Obesità Negli Animali da Compagnia: problema emergente. **Praxis Veterinaria**, v. 20, n. 2, p.18-22, 1999.
- | NEMET D.; BARKAN S.; EPSTEIN Y.; FRIEDLAND O.; KOWEN G.; ELIAKIM A. Short- and Long-Term Beneficial Effects of a Combined Dietary-Behavioral-Physical Activity Intervention for the Treatment of Childhood Obesity. **Pediatrics**, v.114, p. 443-49, 2005.
- | RADAKOVICH, L. B.; TRUELOVE, M. P.; PANNONE, S. C.; OLVER, C. S.; SANTANGELO, K. S. Clinically healthy overweight and obese dogs differ from lean controls in select CBC and serum biochemistry values. **Veterinary Clinical Pathology**, v.46, n.2, p. 221-226, 2017.
- | RAFAJ, R. B.; MARINCULIC, A.; TVARIJONAVICIUTE, A.; CERON, J.; MIHALJVIC, Z.; TUMPA, A.; MRKJAK, V. Plasma markers of inflammation and hemostatic and endothelial activity in naturally overweight and obese dogs. **BMC Veterinary Research**, v. 13, n. 13, p. 2-7, 2017.
- | SAFADI , D. M . **Avaliação hematológica e bioquímica sérica em cães (*Canis lupus familiaris*) obesos** . Tese Mestrado Universidade Estadual do Centro Oeste do Paraná, Guarapuava , 2018.
- | ZALDIVAR, F.; MCMURRAY, R.G.; NEMET, D.; GALASSETTI, P.; MILLS, P.J.; COOPER, D.M. Body fat and circulating leukocytes in children. **International Journal of Obesity**, v.30, p.906-911, 2006.
- | ZORAN, D.L. Feline obesity, clinical recognition and management. **Compendium: Continuing Education for Veterinarians**, v.31, n.6, E3, 2009.

