MARIANE CESCHIN ERNANDES

**AVALIAÇÃO DO METABOLISMO PROTEICO E AMINOACÍDICO DE
CÃES COM SHUNT PORTOSSISTÊMICO**

Pirassununga

2018

MARIANE CESCHIN ERNANDES

**AVALIAÇÃO DO METABOLISMO PROTEICO E AMINOACÍDICO DE CÃES COM
SHUNT PORTOSSISTÊMICO**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Departamento:

Nutrição e Produção Animal

Área de concentração:

Nutrição e Produção Animal

Orientador:

Prof. Dr. Márcio Antonio Brunetto

Pirassununga

2018

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T. 3687
FMVZ

Ernandes, Mariane Ceschin
Avaliação do metabolismo proteico e aminoacídico de cães com *shunt* portossistêmico / Mariane Ceschin Ernandes. – 2018.
63 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, Pirassununga, 2018.

Programa de Pós-Graduação: Nutrição e Produção Animal.

Área de concentração: Nutrição e Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Márcio Antonio Brunetto.

1. Aminoácidos. 2. Desvio portossistêmico. 3. Canino. 4. Dieta hipoproteica. 5. Aminograma. I. Título.

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Metabolismo aminoacídico de cães com desvio portossistêmico alimentados com dieta hipoproteica", protocolada sob o CEUA nº 6422260816 (10.00344), sob a responsabilidade de **Márcio Antônio Brunetto** e equipe; **Fábio Alves Teixeira** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 15/03/2017.

We certify that the proposal "Aminoacid metabolism of dogs with portosystemic shunt fed hypoproteic diet", utilizing 10 Dogs (males and females), protocol number CEUA 6422260816 (10.00344), under the responsibility of **Márcio Antônio Brunetto** and team; **Fábio Alves Teixeira** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 03/15/2017.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **08/2016** a **12/2016**

Área: **Clínica Médica Veterinária**

Origem: **Animais de proprietários**

Espécie: **Cães**

sexo: **Machos e Fêmeas**

Idade: **1 a 15 anos**

N: **10**

Linhagem: **Na dependência da casuística**

Peso: **2 a 60 kg**

Local do experimento: Hospital veterinário da FMVZ/USP, clínica All Care Vet e laboratório Provet

São Paulo, 24 de julho de 2018

Profa. Dra. Anneliese de Souza Traldi

Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

Roseli da Costa Gomes

Secretária

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: ERNANDES, Mariane Ceschin

Título: **Avaliação do metabolismo proteico e aminoacídico de cães com shunt portossistêmico**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Doutor em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof.Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof.Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof.Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof.Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof.Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Dedico esse trabalho,
Aos meus pais, Sandra e Roberto, por todo amor incondicional, carinho, dedicação
e apoio de sempre
À minha irmã por ter me influenciado a seguir essa profissão tão maravilhosa
À minha vovó, Mércia, por sempre estar ao meu lado em todos os momentos
E aos meus dogs, Yuri, Nayla, Luna e Nolan por me inspirarem

AGRADECIMENTOS

À Deus, São Francisco de Assis e ao meu anjo da guarda, por me protegerem e me iluminarem todos os dias da minha vida.

Aos meus pais, Sandra e Roberto, por todo o amor incondicional, carinho, educação, princípios e valores, sou o que sou hoje por toda dedicação e abdicação de vocês em fazer o melhor todos os dias, espero ser pelo menos 1/3 do que vocês foram para mim um dia, amo vocês incondicionalmente.

À minha irmã, Aline, primeiro por ser a melhor companheira da vida e segundo por me apresentar essa profissão tão maravilhosa! Ao meu cunhado, Eduardo, por ter acompanhado toda a minha jornada até aqui sempre presente, realmente como um irmão! E a vocês dois por me darem o melhor presente da vida, a Beatriz, minha afilhada que como um anjo sempre me arrancou sorrisos até mesmo nos momentos mais difíceis.

À minha vovó, Mércia que sempre me mostrou como ser uma pessoa melhor a cada dia, pode ter certeza que você é a minha inspiração. E aos meus anjos, Oswaldo, Ana e Miguel (*in memoriam*), que eu tenho certeza que de onde eles estão vibram com cada conquista minha, me protegem e me guardam.

Ao Felipe por todo carinho, companheirismo, paciência, ajuda, por me ensinar tanto, e me acalmar nos momentos mais difíceis, tenho certeza que ficou mais fácil tendo você ao meu lado! Companheiro para toda a vida, te amo.

À Universidade de São Paulo, à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia e ao Departamento de Nutrição e Produção Animal, pela oportunidade e crescimento profissional adquiridos durante todo esse tempo.

À CAPES pelo concessão da bolsa de estudos que foi fundamental para a conclusão deste trabalho.

À Total Alimentos pelo financiamento deste trabalho, sem o apoio com certeza não teríamos chegado ao fim.

Ao meu orientador Prof. Dr. Márcio Antonio Brunetto, por todos os ensinamentos profissionais e de vida, pela amizade, pelas trocas de conhecimento e experiências, por toda paciência, carinho e oportunidades. Serei sempre grata.

À Prof Dr. Catarina Abdalla Gomide, por ter um carinho maternal comigo, por todos os conselhos, oportunidades, ajuda e confiança, sou muito grata.

Ao GENP (Grupo de Estudos em Nutrição Pet) o qual me orgulho em fazer parte, obrigada a cada um, que mesmo com pouca convivência, foram e são importantes para as trocas de conhecimento e experiências. Em especial ao Fábio, por todo empenho e dedicação na execução do projeto.

À Laura, Karine, Maria e Massae, vocês foram essenciais nesse período, as risadas infinitas e a ajuda sem hesitações sempre foram e serão as maiores qualidades do nosso grupo, sinto muito a falta de vocês.

Ao João Paulo, Eduardo e Dóris, por terem sido inspiração e calma nesse processo e claro por todas as risadas e trocas de experiência, que foram muitas, principalmente risadas.

Ao Johnny e Janaina, por estarmos sempre juntos, nas viagens, cozinhas, churrascos e claro pelos ensinamentos profissionais e de vida.

À Lucineia simplesmente por ser minha mãe de coração na ausência da de sangue, você sempre foi meu apoio e meu ponto de equilíbrio, gratidão eterna por todas as conversas, risadas, puxões de orelha e claro pelo amor, sou muito sortuda em ter uma segunda mãe como você.

Ao meu padrinho Odinir por estar sempre comigo, aplaudindo cada conquista e também me aconselhando em todos os momentos, você é um presente de Deus na minha vida. À sua esposa Giovana primeiro por fazer ele muito feliz e segundo por me acolher e ser tão carinhosa comigo.

Às minhas amigas Deborah e Érica por serem companheiras de vida, vocês não imaginam o carinho e amor que tenho por vocês.

À Aninha, Karina, Bruna e Juliana por terem sido a alegria dos meus dias durante o trabalho, tenho certeza que valeu muito a pena cada momento, a amizade de vocês foi um presente.

À minha sogra Elaine por todo carinho e cuidado, você é muito especial na minha vida, você sabe disso.

Aos meus dogs Yuri (*in memorian*), Nayla (*in memorian*), Luna e Nolan por serem o exemplo de amor incondicional, sem vocês meu conceito de amor com certeza seria incompleto.

Aos cães e tutores que participaram do projeto, sem vocês esse trabalho não teria nenhum sentido. Obrigada pela confiança e parceria.

O sonho

*Sonhe com aquilo que você quer ser,
porque você possui apenas uma vida
e nela só tem uma chance
de fazer aquilo que quer.*

*Tenha felicidade bastante para fazê-la doce.
Dificuldades para fazê-la forte.
Tristeza para fazê-la humana.
E esperança suficiente para fazê-la feliz.*

*As pessoas mais felizes não tem as melhores coisas.
Elas sabem fazer o melhor das oportunidades
que aparecem em seus caminhos.*

*A felicidade aparece para aqueles que choram.
Para aqueles que se machucam
Para aqueles que buscam e tentam sempre.
E para aqueles que reconhecem
a importância das pessoas que passaram por suas vidas.*

Clarice Lispector

**“O homem que não cultiva o hábito de pensar desperdiça um dos maiores
prazeres da vida e não consegue aproveitar o máximo de si.”**

Thomas Edison

RESUMO

ERNANDES, M.C. **Avaliação do metabolismo proteico e aminoacídico de cães com *shunt* portossistêmico.** 2018. 63 f. Tese de Doutorado (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

No desvio portossistêmico, o sangue proveniente do trato gastrointestinal não é direcionado ao fígado para ser metabolizado e sim desviado para a circulação sistêmica. O acúmulo dessas substâncias tóxicas associado às alterações funcionais do órgão pode resultar em encefalopatia hepática. O manejo nutricional é o ponto chave para o sucesso da terapia. Dessa forma, o presente estudo objetivou avaliar os efeitos do emprego de um alimento hipoproteico nas concentrações séricas aminoacídicas de cães com desvio portossistêmico. Foram incluídos nove cães com diagnóstico de desvio portossistêmico (Shunt) e nove cães saudáveis (Controle). Os animais foram avaliados no dia um (T0) e após 60 dias (T60) de ingestão de uma dieta hipoproteica comercial. Nos dois momentos foram coletadas amostras de sangue para realização de hemograma, leucograma, bioquímica sérica, determinação dos aminoácidos séricos e amônia. A análise estatística dos resultados referentes aos hemogramas e exames bioquímicos foi baseada em um modelo misto que considerou efeito fixos de grupo, tempo e interação e, para os aminoácidos somente efeitos fixos de grupo ($p < 0,05$). Os animais do grupo controle apresentaram maiores valores de proteína total ($p < 0,0001$), ureia ($p < 0,0001$), creatinina ($p = 0,0163$), albumina ($p < 0,0001$) e colesterol ($p = 0,0012$) quando comparado ao grupo Shunt que apresentou maiores valores de hematócrito ($p = 0,0213$), ALT e FA ($p = 0,0253$ e $p = 0,0004$, respectivamente), amônia em jejum ($p = 0,0083$) e amônia pós-prandial ($p = 0,0036$). Em relação aos aminoácidos séricos, o grupo Shunt apresentou valores maiores quando comparados ao grupo Controle nas concentrações dos aminoácidos fenilalanina ($p = 0,0054$), glutamato ($p = 0,0066$), serina ($p = 0,0054$) e tirosina ($p = 0,0106$), já o aminoácido sérico alanina ($p = 0,0280$), a razão de Fischer ($p = 0,0093$) e a razão da concentração sérica de aminoácidos de cadeia ramificada e tirosina ($p = 0,0243$) foram maiores no grupo Controle. Concluiu-se que o manejo dietético foi eficiente em prevenir a progressão da doença e controlar os sinais clínicos, sem promover aumento nas concentrações séricas dos aminoácidos de cadeia ramificada.

Palavras-chave: Aminoácidos. Canino. Desvio portossistêmico. Dieta hipoproteica.

ABSTRACT

ERNANDES, M.C. **Evaluation of amino acid and protein metabolism in dogs with portosystemic shunt.** 2018. 63 f. Tese de Doutorado (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

In the portosystemic shunt, the blood coming from the gastrointestinal tract is not directed to the liver to be metabolized but rather diverted to the systemic circulation. The accumulation of these toxic substances associated with functional alterations of the organ can result in hepatic encephalopathy. Nutritional management is the key to successful therapy. Thus, the present study aimed to evaluate the effects of the use of a hypoproteic food on the protein and amino acid profile of dogs with portosystemic shunt. For this, nine dogs with a diagnosis of portosystemic shunt (Shunt) and nine healthy dogs (Control) were included. The dogs were evaluated on day one (T0) and after 60 days (T60) feeding a commercial hypoprotein diet. Blood samples were collected for hemogram, leukogram, serum biochemistry, determination of serum amino acids and ammonia. For the analysis of hemograms and biochemistry, a mixed model was used considering group fixed effects, time and interaction, and for amino acids only group fixed effects ($p < 0.05$). The results showed that the animals in the Control group presented higher values of total protein ($p < 0.0001$), urea ($p < 0.0001$), creatinine ($p = 0.0163$), albumin ($p < 0.0001$) and cholesterol ($p = 0.0012$) when compared to the Shunt group that presented higher values of hematocrit ($p = 0.0213$), ALT and FA ($p = 0.0253$ and $p = 0.0004$, respectively), fasting ammonia ($p = 0.0083$) and postprandial ammonia ($p = 0.0036$). Serum amino acids ($p = 0.0054$), glutamate ($p = 0.0066$), serine ($p = 0.0054$) and tyrosine ($p = 0.0054$) were higher in the Shunt group than in the Control group (0.0106). The Fischer ratio ($p = 0.0093$) and the ratio of serum concentration of branched-chain amino acids and tyrosine ($p = 0.0243$) were higher for the Control group. In conclusion, that dietary management was efficient in preventing disease progression and controlling clinical signs without increasing branched-chain amino acids.

Keywords: Amino acids. Canine. Portosystemic shunt. Hypoproteic Diet.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Avaliações realizadas nos diferentes tempos experimentais.....	38
Figura 2- Representação gráfica da interação grupo*tempo em relação à variável ureia.....	45
Figura 3- Representação gráfica da interação grupo*tempo da variável globulina.....	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Condutas recomendadas de acordo com as alterações apresentadas nos pacientes com desvio portossistêmico	23
Tabela 2. Teores nutricionais do alimento empregado no estudo	37
Tabela 3. Valores de hemograma e exames bioquímicos observados nos grupos experimentais	43
Tabela 4. Concentrações de aminoácidos séricos essenciais e não essenciais observados nos grupos experimentais	50

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1 FÍGADO E CIRCULAÇÃO PORTAL.....	17
2.2 DESVIO PORTOSSISTÊMICO OU SHUNT PORTOSSISTÊMICO...	18
2.3 ENCEFALOPATIA HEPÁTICA.....	26
2.3.1 AMÔNIA	28
2.4 PROTEÍNA E DIGESTÃO PROTEICA.....	30
2.5 AMINOÁCIDOS.....	32
2.6 TERAPIA NUTRICIONAL.....	33
3 OBJETIVOS.....	35
3.1 PRINCIPAL	35
3.2 SECUNDÁRIOS	35
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	35
4.1 COMITÊ DE ÉTICA.....	35
4.2 LOCAL DE CONDUÇÃO DO ENSAIO	36
4.3 ANIMAIS.....	36
4.4 DIETA EXPERIMENTAL E MANEJO DIETÉTICO DOS ANIMAIS	37
4.5 PROTOCOLO EXPERIMENTAL.....	38
4.6 COLHEITA DE MATERIAL E EXAMES LABORATORIAIS.....	38
4.6.1 Hemograma.....	39
4.6.2 Creatinina sérica	39
4.6.3 Alaninoaminotransferase (ALT).....	39
4.6.4 Fosfatase alcalina (FA).....	39
4.6.5 Colesterol e triglicérides	39
4.6.6 Proteínas totais	40
4.6.7 Albumina	40

4.6.8 Ureia.....	40
4.6.9 Amônia	40
4.7 DETERMINAÇÃO DOS AMINOÁCIDOS SÉRICOS E DA DIETA	40
4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS	41
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
5.1 Animais.....	42
5.2 HEMOGRAMA E PERFIL BIOQUÍMICO.....	42
5.3 CONCENTRAÇÃO SÉRICA DOS AMINOÁCIDOS ESSENCIAIS E NÃO ESSENCIAIS	49
6 CONCLUSÕES	55
REFERÊNCIAS.....	56

1 INTRODUÇÃO

As desordens hepáticas são consideradas entre as mais complexas para serem tratadas na prática clínica, já que o fígado realiza cerca de 1500 funções metabólicas, dentre elas os processos de digestão e absorção dos nutrientes. Tais funções demonstram a importância do manejo nutricional para garantir o reparo e a regeneração deste órgão fundamental e evitar complicações futuras.

O fígado funciona como conexão entre o sistema gastrointestinal e o sangue, recebe a grande maioria dos nutrientes absorvidos pelo intestino pela veia porta. Esse sangue recebido é metabolizado com objetivo de transformar e eliminar substâncias tóxicas, porém quando há os desvios portossistêmicos, que são comunicações vasculares entre o sistema venoso portal e circulação sistêmica, existe a confluência das substâncias tóxicas e não metabolizadas diretamente para a circulação sistêmica, sem passar pelo fígado.

O sangue que chega ao fígado possui substâncias hepatotróficas, que são responsáveis por hipertrofia e hiperplasia hepática, na ocorrência destes desvios, o fluxo sanguíneo que chegará ao fígado estará diminuído, o que resulta em atrofia e disfunção do órgão citado, com isso o metabolismo das toxinas intestinais estará diminuído, o que resulta em maior acúmulo no sangue.

O manejo nutricional nessa desordem, como citado acima, é o ponto chave do sucesso do tratamento, principalmente para os casos que há desenvolvimento da encefalopatia hepática. De acordo com novas evidências clínicas é importante manter a ingestão calórica adequada desses pacientes, porém conhecer o perfil de aminoácidos dessa dieta se torna importante principalmente para aqueles animais intolerantes à proteína.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 FÍGADO E CIRCULAÇÃO PORTAL

O fígado é considerado o maior órgão sólido do corpo em todas as espécies animais e até mesmo o homem. Nos cães este órgão representa entre 3 e 4% do peso corporal adulto. Está localizado na porção cranial do abdômen, após o diafragma (KÖNIG; LIEBICH, 2004). Este órgão é responsável pela realização de muitas funções essenciais à vida, sendo considerado a maior glândula do organismo (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004). Como principal função pode ser citada a produção da bile, porém o metabolismo das proteínas, carboidratos e gorduras fazem parte desse conjunto de funções que o fígado desempenha. Essas atividades irão depender das condições metabólicas deste órgão e da circulação sanguínea que drena o trato gastrointestinal em sua totalidade, isso garante que os produtos da digestão sejam transportados após a absorção até as células hepáticas, antes de atingirem a circulação sistêmica (VAN DEN INGH et al., 1995; VAN DEN BOSSCHE; VAN STEENBEEK, 2016).

Aproximadamente 70% do sangue que chega ao fígado é oriundo da veia porta e em menor proporção da artéria hepática. A veia porta é responsável pelo transporte do sangue venoso que apresenta alta concentração de nutrientes absorvidos por todo o sistema gastrointestinal, exceto os lipídios que são transportados por via linfática até o fígado para metabolização (JUNQUEIRA, 1995). Além de receber alto fluxo sanguíneo, a posição anatômica do fígado no sistema circulatório é ideal para captar, transformar e eliminar substâncias tóxicas e sintetizar proteínas plasmáticas (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

A veia porta é o ponto de confluência das veias mesentéricas cranial e caudal, veia esplênica e gastroduodenal. Antes de entrar no fígado, ao atingir o órgão, a veia porta divide-se em ramos esquerdo e direito, seguida de nova divisão com objetivo de suprir a irrigação de todos os lobos hepáticos (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004). A veia porta, então, ramifica-se em vênulas menores, onde o sangue entra no parênquima hepático pelas tríades portais, passa através dos sinusóides hepáticos e drena para as veias centrais, que então confluem com as vênulas hepáticas maiores

e chegam à veia cava caudal. Através dos sinusóides hepáticos, o sangue portal é distribuído aos hepatócitos para ser metabolizado no sistema reticuloendotelial (BERENT; TOBIAS, 2009).

Como discutido outrora, o fígado recebe simultaneamente sangue arterial e venoso, essa irrigação pode ser dividida em duas fases, a primeira denominada arterial, responsável pelo suprimento de 25% de sangue e 50% de oxigênio, a segunda fase, denominada portal, responsável pelo suprimento de 75% de sangue que ocorre ao final da primeira fase. A regulação desse fluxo ocorre por processo denominado auto regulação, quando o fluxo portal diminui, aumenta o arterial (CULLEN et al., 2006).

O sangue que chega ao fígado através da veia porta é responsável pelo suprimento funcional desse órgão, possui em sua constituição fatores hepatotróficos oriundos da circulação portal que carrega nutrientes e hormônios. Esses fatores são responsáveis pela hipertrofia e hiperplasia hepática e assim, em situações fisiológicas, garantem adequado crescimento e regeneração hepática (GORLA JUNIOR et al., 2001; VAN DEN BOSSCHE; VAN STEENBEEK, 2016).

2.2 DESVIO PORTOSSISTÊMICO OU SHUNT PORTOSSISTÊMICO

O desvio portossistêmico (DPS) ou shunt portossistêmico caracteriza-se por conexão anormal entre a circulação portal e sistêmica. Os DPS podem ser congênitos ou adquiridos e, intra-hepáticos ou extra-hepáticos, quando congênitos. Essa comunicação permite que o sangue do trato gastrointestinal flua para a circulação sistêmica sem ter sido drenado pela veia porta em direção ao fígado, desta forma, o conteúdo que chega à circulação sistêmica contém toxinas endógenas e exógenas que seriam filtradas pelo fígado previamente, motivo pelo qual, o sinal clínico dos animais portadores de desvio portossistêmico congênito mais identificado é a encefalopatia hepática (EH) (BROCKMAN, 2007; MEYER et al., 2010; WATSON; BUNCH, 2010; MARKS, 2012; MADDISON, 2013).

O desvio portossistêmico congênito é considerado a disfunção circulatória hepática mais comum em cães. Este ocorre pela persistência de um vaso fetal que deveria fechar após o nascimento ou pelo desenvolvimento anômalo do sistema

venoso vitelino, que origina uma conexão funcional anormal. O DPS é mais diagnosticado em cães de raças definidas, porém não foi identificada ainda uma base genética que determine essa maior predisposição (TOBIAS; ROHRBACH, 2003; WATSON; BUNCH, 2010). As raças mais descritas são Schnauzer, Yorkshire Terrier, Poodle, Maltês, Shih Tzu e Dachshund, assim como nas raças Irish Wolfhounds, Old English Sheepdogs e Cain Terrier (TOBIAS; ROHRBACH, 2003; WATSON; BUNCH, 2010). Tobias e Rohrbach (2003) avaliaram 2400 casos de cães com desvio portossistêmico entre os anos de 1980 e 2002, concluíram que a proporção de diagnóstico dessa afecção aumentou de 5 em 10.000 cães em 1980 para 5 em 1000 cães em 2001. O desvio portossistêmico congênito foi descrito em 0,18% de todos os cães avaliados e em 0,05% dos cães sem raça definida. Os sinais e o diagnóstico clínico são realizados em animais com menos de um ano de idade em 75% dos cães, mas naqueles que apresentam sinais moderados ou atípicos, podem não ser diagnosticados até a meia-idade (PRATSCHKE, 2010).

O DPS congênito pode ainda ser classificado em intra ou extra-hepático, quando ocorre a persistência de fluxo sanguíneo através do ducto venoso é considerado como intra-hepático e este tipo acomete em sua grande maioria os cães de raças grandes (LAMB; WHITE, 1998; MADDISON, 2013). O DPS extra-hepático ocorre na sua maioria em cães miniaturas, porém nessa categoria existem relatos de DPS intra-hepáticos (HUNT et al., 2000).

Nas avaliações clínicas, os animais que são acometidos pelo DPS congênito apresentam à anamnese relato de crescimento insatisfatório, incapacidade de ganho de peso e sedação excessiva após anestesia ou determinados fármacos. Os principais sinais clínicos apresentados são: sinais de encefalopatia hepática, anorexia intermitente, vômito, diarreia, urólitos de urato, poliúria e polidipsia, polaciúria, disúria e hematúria. Em complicações do caso pode existir hipoalbuminemia, predispondo os animais a apresentarem ascite ou edema. O grau de severidade dos sinais clínicos apresentados é dependente do volume sanguíneo desviado do fígado e da localização do desvio (SILVA et al., 2009). Em revisão, Pratschke (2010) relata que mesmo quando não existem sinais óbvios que sugerem DPS em filhotes ou em animais jovens, mas que ocorra de forma recorrente febre, anorexia, gastroenterites, abscessos e/ou poliartrites, pode haver DPS.

Alterações hepáticas como cirrose e hepatite podem desencadear hipertensão portal, quando esse quadro é estabelecido o organismo em resposta faz com que as

conexões microvasculares que não eram ativas, mas permaneceram após o nascimento se tornem funcionais, o que caracteriza o desvio portossistêmico adquirido, que geralmente são múltiplos e representam 20% dos DPS em cães (DANIEL, 2009; WATSON, 2014). Ocorrem em sua maioria em cães de meia idade (SILVA et al., 2009; WATSON; BUNCH, 2010) decorrentes de hipertensão portal (HP) crônica, por hepatopatias adquiridas ou desordens vasculares congênitas (BONELLI et al., 2008).

Estes desvios geram diminuição da perfusão venosa portal e da massa hepática, ocasionada pela falta dos fatores hepatotróficos, assim permite que compostos derivados do intestino, da dieta ou do metabolismo endógeno, atinjam maiores concentrações sanguíneas e subsequentemente tenham acesso ao sistema nervoso central (MARKS, 2012) e manifestem a encefalopatia hepática (EH).

Como não há a existência de um sinal clínico patognomônico, seu diagnóstico definitivo é realizado na totalidade através do exame físico, laboratorial, radiografia contrastada, cintilografia porto-retal, ultrassonografia e/ou laparotomia exploratória (BICHARD; SCHERDING, 2003).

Para o diagnóstico clínico pode ser observada em 60 a 72% dos cães anemia não regenerativa normocrômica, microcítica leve a moderada, cuja causa dessa anemia não seja totalmente conhecida, embora estudos demonstrem fatores como mecanismo deficiente do transporte do ferro, diminuição das concentrações séricas de ferro, diminuição da capacidade de ligação do ferro e aumento das reservas hepáticas de ferro nas células de Kupffer (BUNCH et al., 1995; SIMPSON et al., 1997). Além das alterações em hemograma, achados extremamente comuns são as alterações bioquímicas, que podem ser encontradas em 50% dos cães como hipoalbuminemia, 70% dos casos podem apresentar diminuição da ureia plasmática, hipocolesterolemia e hipoglicemia e, aumento discreto a moderado (2 a 3 vezes) em fosfatase alcalina e alanina aminotransferase (BERENT; TOBIAS, 2009).

Os ácidos biliares são sintetizados, conjugados e secretados pelo fígado a partir do colesterol e armazenados na vesícula biliar, participam do metabolismo dos lipídios, após serem liberados no duodeno no período pós-prandial, para promoverem a emulsificação das gorduras e sequente digestão, absorção e metabolização (CENTER et al., 1991). Os ácidos biliares são reabsorvidos no íleo, transportados para o sistema venoso portal e captados pelos hepatócitos para recirculação, por esse motivo a mensuração dos ácidos biliares séricos em jejum e

pós-prandiais são importantes para o diagnóstico clínico, já que seu aumento pode caracterizar disfunção hepática (CENTER et al., 1991; CENTER, 1993). Outro exame importante que pode auxiliar o diagnóstico dos DPS é a mensuração da amônia plasmática que pode ser utilizada também para avaliar o pós-operatório de animais com DPS, os valores estarão aumentados na grande maioria dos casos (GERRITZEN-BRUNING et al., 2006).

As células parenquimatosas do fígado sintetizam a maioria dos fatores de coagulação sanguínea, por este motivo quando existe insuficiência hepática, como é visto nos casos de DPS, o tempo de coagulação sanguínea desses animais pode estar alterado, porém o sangramento espontâneo é raro (KUMMELING et al., 2006).

O diagnóstico ainda pode ser feito por exame histopatológico nas amostras de biópsia hepática, já que a maioria dos cães com DPS apresentam alterações microscópicas, incluindo proliferação ductular, atrofia hepatocelular, proliferação ou duplicação arteriolar, lipidose e vacúolos citoplasmáticos de gordura, aumento dos vasos linfáticos ao redor das veias centrais e hipertrofia das células de Kupffer e Ito (ISOBE et al., 2008).

Além dos métodos diagnósticos descritos acima, o mesmo pode ser realizado também através de exames de imagem, como a ultrassonografia abdominal que é um meio seguro, não invasivo e não requer sedação ou manipulações especiais para sua realização. Os principais achados são a diminuição do número de veias hepáticas e portais, fígado de tamanho reduzido e a presença de um vaso anômalo. Nos casos de shunt extra-hepático, o diagnóstico por ultrassonografia é dificultado pelo menor tamanho do paciente e dos vasos, presença de gás intestinal e nos pulmões. A precisão deste método de diagnóstico é variável, cuja sensibilidade oscila de 47 a 95% e especificidade entre 67 e 100%. O mesmo pode detectar a existência de vasos anômalos, mas a origem e a inserção exata do shunt não são previstas de maneira confiável (KIM et al., 2013).

Outra forma de diagnóstico utilizada é a cintilografia, que é um método não invasivo que se baseia na aplicação de um radioisótopo por via retal, nos animais esse elemento é absorvido pelas veias do colón, que drenam para a veia mesentérica caudal e depois para a veia porta, para os animais com DPS o isótopo é liberado da veia porta para o coração, contornando o fígado. Após aplicação do isótopo o animal é radiografado por câmera gama.

A angiografia por tomografia computadorizada e por ressonância magnética são considerados métodos padrão ouro na avaliação do sistema venoso portal na medicina humana. Por ser um procedimento não invasivo, rápido e que fornece imagens a partir da aplicação de contraste de todo o sistema portal, poderia ser o de escolha para os cães, porém existe a necessidade de sedação desses animais para a realização do exame de imagem (KIM et al., 2013). Esses autores realizaram um estudo que tinha como objetivo comparar a acurácia da tomografia computadorizada e da ultrassonografia na detecção e caracterização dos DPS em cães. Para a realização do estudo, foram incluídos 76 casos de suspeita de desvio portossistêmico e os autores concluíram que a sensibilidade para a detecção via tomografia foi de 96%, muito maior que a ultrassonografia abdominal que apresentou 68% de sensibilidade. Os autores concluíram que o diagnóstico realizado através da tomografia apresentou 5,5 vezes mais chance de ser correto quando comparado à ultrassonografia.

Após diagnóstico, o tratamento pode ser baseado tanto em cirurgia para correção do desvio ou tratamento clínico conservador (MEYER et al., 2010; GREENHALGH et al., 2010). Quando se opta pelo tratamento conservador, assim como para os momentos pré e pós-cirúrgico, quando a opção é o tratamento cirúrgico, o ponto principal é o manejo alimentar do paciente, com o objetivo de evitar a ocorrência dos sinais de encefalopatia hepática (MEYER et al., 2010).

A terapia nutricional será abordada na sequência, em tópico específico, porém para o sucesso e a possibilidade do tratamento implementado, torna-se necessária a estabilização do paciente, que é alcançada de acordo com a sintomatologia do caso avaliado. Na tabela 1 está apresentado um resumo das condutas a serem seguidas, conforme recomendações da literatura.

Tabela 1. Condutas recomendadas de acordo com as alterações apresentadas nos pacientes com DPS.

Alterações	Terapia
Translocação bacteriana/diminuição da absorção de subproduto bacteriano (amônia)	<p>Enemas: água morna ou 30% de solução de lactulose na dose de 5-10mL/Kg de peso corporal;</p> <p>Lactulose oral: 0,5-1,0mL/Kg de peso corporal por via oral a cada 6 – 8 horas;</p> <p>Antibioticoterapia: Metronidazol - 7,5mg/Kg de peso corporal por via intravenosa ou oral a cada 12 horas; Ampicilina - 22mg/Kg de peso corporal por via intravenosa a cada 6 horas;</p>
Coagulopatias (sintomáticas; pós operatórias)	<p>Plasma fresco congelado: 10 – 15mL/kg, em 2 a 3 horas;</p> <p>Vitamina K: 1,5 – 2mg/kg por via subcutânea ou intramuscular, a cada 12 horas, realizar 3 doses e depois modificar para a cada 24 horas;</p>

<p>Ulceração gastrintestinal</p>	<p>Antiácidos</p> <p>Famotidina: 0,5 -1,0mg/Kg de peso corporal por via intravenosa ou oral;</p> <p>Omeprazol: 0,5 – 1,0mg/Kg de peso corporal por via oral;</p> <p>Esomeprazol: 0,5mg/kg de peso corporal por via intravenosa a cada 12 - 24 horas;</p> <p>Misoprostol: 2 – 3µg/Kg de peso corporal por via oral a cada 12 horas;</p> <p>Protetor</p> <p>Sucralfato: 1g/25 Kg de peso corporal por via oral a cada 8 horas;</p>
<p>Controle de convulsões</p>	<p>Fenobarbital: 16mg/kg por via intravenosa dividido em 4 doses a cada 12 a 24 horas;</p> <p>Brometo de potássio: 400 a 600mg/kg/dia ao longo de 1 a 5 dias após ingestão de alimentos, pode ser administrado por via retal;</p> <p>Propofol: 0,5 – 1mg/kg em bolus intravenoso;</p>
<p>Diminuir o edema cerebral</p>	<p>Manitol: 0,5 – 1,0g/Kg de peso corporal em bolus ao longo de 20-30 min;</p>
<p>Terapia hepatoprotetora para condições crônicas</p>	<p>S-adenosilmetionina (SAME): 17 – 22mg/kg/dia, por via oral;</p> <p>Ácido ursodesoxicólico: 10 – 15 mg/kg/dia;</p> <p>Vitamina E: 15 UI/kg/dia;</p> <p>Silimarina: 8 – 20 mg/kg dividido a cada 8 horas.</p>

Adaptado de Berent & Tobias (2009).

Todos os tratamentos clínicos são realizados nos pacientes pré-cirúrgicos ou para aqueles em que a cirurgia não possa ser realizada, com propósito de estabilização do animal, porém quando realizados não resultam na melhora da perfusão hepática nos casos de DPS (BERENT; TOBIAS, 2009; MADDISON, 2013). Greenhalgh e colaboradores (2010) realizaram uma comparação entre 126 cães com um único desvio portossistêmico congênito quanto ao tempo de sobrevida após tratamento cirúrgico ou médico e observaram que os cães que passaram por cirurgia apresentaram maior sobrevida do que aqueles que receberam tratamento clínico. O mesmo grupo de pesquisa realizou outro estudo seguindo essa mesma linha e avaliou a sobrevida e qualidade de vida dos cães por meio de aplicação de questionários aos tutores dos animais, os quais foram interrogados principalmente quanto a frequência dos sinais clínicos. Os autores concluíram que os animais que passaram por tratamento cirúrgico apresentaram maior taxa de sobrevida e menor frequência de sinais clínicos, quando comparados ao tratamento apenas clínico (GREENHALGH et al., 2014). No entanto, o manejo clínico adequado desses pacientes é muito importante para sua estabilização e sequente tratamento cirúrgico (MANKIN, 2015).

O procedimento cirúrgico de escolha para os casos de DPS consiste na correção cirúrgica do vaso anômalo. No entanto, a ligação completa do vaso pode ser fatal por aumentar o volume de sangue que chega ao sistema porta e, resultar em quadro de hipertensão portal. Dessa forma, não são todos os animais que podem ser submetidos a essa opção de tratamento cirúrgico (GREENHALGH et al., 2014). Como opções alternativas existem as técnicas de ligadura parcial, onde o desvio é fechado até o nível máximo tolerado. Para a realização dessa técnica são utilizados materiais como a seda (KUMMELING et al., 2004), colocação de constritor anelar ameróide (FALLS et al., 2013), utilização de bandagem de celofane (HUNT et al., 2004) e bobinas intravasculares trombogênicas (WEISSE et al., 2014). Os resultados pós-operatórios são muito variáveis, o que torna a intervenção cirúrgica um desafio, porém com maiores chances de melhora clínica, conforme já discutido.

2.3 ENCEFALOPATIA HEPÁTICA

A encefalopatia hepática é definida como um conjunto de anormalidades neuropsiquiátricas presentes em pacientes com disfunção hepática após a exclusão de outras doenças cerebrais conhecidas (FERENCI et al., 2002; MADDISON, 2013). A primeira descrição dessa anormalidade foi realizada em 1971, por Condon e colaboradores, na tentativa de se investigar a gravidade dos sinais neurológicos e o tempo de sobrevivência de cães que foram submetidos à intervenção cirúrgica para a realização de uma fístula Eck, anastomose entre a veia porta e a veia cava inferior, quando alimentados com diferentes fontes proteicas (carne bovina, peixe e leite). Os sinais clínicos foram mais precoces e graves nos animais alimentados com carne bovina, quando comparados ao grupo alimentado com peixe. No entanto, os melhores resultados foram descritos quando foi utilizada a dieta a base de proteína do leite.

A fisiopatologia desta síndrome inclui diversos fatores, todavia, a maioria está relacionada ao acúmulo de metabólitos que não foram metabolizadas pelo fígado, como a amônia, substâncias similares aos benzodiazepínicos, falsos neurotransmissores (tiamina, triptofano, octopamina), mercaptanas e ácidos graxos de cadeia curta (ALDRIDGE et al., 2015). Sabe-se que o principal composto tóxico envolvido é a amônia, entretanto, a relação molar entre aminoácidos de cadeia ramificada e aminoácidos aromáticos no fluido cefalorraquidiano e plasma também parece ter função importante, ambos por apresentarem interação com neurotransmissores no sistema nervoso central. Além disso, outro ponto a ser considerado na fisiopatologia desta síndrome é a inflamação. Estudos em pessoas tem demonstrado a associação entre encefalopatia hepática e aumento de marcadores inflamatórios (MEYER et al., 2010; ALDRIDGE et al., 2015).

Gow e colaboradores (2012), na busca por modelos animais que fossem similares ao humano, perceberam que cães portadores de *shunt* portossistêmico possuem similaridade em relação aos sinais clínicos. Os autores constataram que, como observado em pessoas, existe relação entre encefalopatia hepática e inflamação, ao avaliarem as concentrações séricas de proteína C reativa em cães saudáveis, cães com DPS congênito sem sinais de EH e, cães com DPS congênito com sinais de EH. Estes concluíram que há diferença nas concentrações desse

marcador. Da mesma forma, Tivers e colaboradores (2014) avaliaram variáveis clínicas, hematológicas e bioquímicas de 120 cães portadores de DPS congênito com o objetivo de prever a presença de EH e concluíram que concentrações plasmáticas elevadas de amônia e síndrome da resposta inflamatória sistêmica foram preditores significativos para EH.

Em um estudo retrospectivo que avaliou cães que foram tratados por cirurgia para correção de DPS congênito, 68% desses animais apresentaram sinais neurológicos anormais pré-operatórias (FRYER et al., 2011). Este achado aponta a alta frequência dessa síndrome em cães portadores de DPS. Em outro estudo retrospectivo, dos 80 cães que tinham sinais compatíveis de EH, 64% deles foram diagnosticados com DPS congênito e 25%, com DPS adquirido. Além disso, 6% dos cães apresentavam doença hepática intrínseca, sem sinais de DPS adquirido e, 5% apresentavam sinais de doença hepática do parênquima, sem avaliação ultrassonográfica para o DPS adquirido (SZATMARI et al., 2004).

O diagnóstico dessa síndrome é realizado com base nos sinais clínicos compatíveis, na exclusão de outras causas de encefalopatia, nos achados laboratoriais, estudos de imagem e na resposta ao tratamento (LIDBURY et al., 2016). Os animais que apresentam piora clínica dos sinais de encefalopatia após as refeições são sugestivos de portadores de EH (TABOADA et al., 1995; TIVERS et al., 2014). Outros achados laboratoriais podem ser importantes no diagnóstico da EH, por isso a realização de hemograma completo, perfil bioquímico sérico e urinálise, pois fornecem achados úteis de doenças e/ou distúrbios que estão associados à EH. De um modo geral, cães que são portadores de DPS congênito apresentam na sua grande maioria microcitose, hipoalbuminemia, hipercolesterolemia e concentrações de ureia e glicemia baixas ou no limite inferior dos valores de referência (ALLEN et al., 1999; BERENT; TOBIAS, 2009).

A hiperamonemia é um achado comum entre os cães, porém nem todos apresentam essa alteração, o que sugere que outros fatores estão relacionados com a ocorrência da EH (TIVERS et al., 2014). Da mesma forma, o aumento das concentrações de amônia ocorre na maioria dos casos em humanos (ODEH, 2007). Aldrige e colaboradores (2015) afirmaram em sua revisão que existe discrepância na correlação direta entre a concentração de amônia e a gravidade da EH em pacientes cirróticos. Os autores apontaram ainda que a amônia não deixa de ser um ponto-chave na patogênese da EH, mas pode não ser a única responsável por sequelas

neurocognitivas. Outros fatores como a inflamação sistêmica e microbiota podem agir em sinergismo com o metabolismo do nitrogênio.

O tratamento desta síndrome deve ser realizado principalmente em relação aos sinais clínicos, acompanhamento da ingestão de água e eletrólitos e nutrição adequada (LIDBURY et al., 2016). O trato gastrointestinal é o principal responsável, via degradação dos aminoácidos da dieta pela microbiota intestinal, pela produção de amônia, entretanto, ela também pode ser produzida a partir da ureia endógena excretada no intestino, por ação das ureases bacterianas e, em menor quantidade, por quase todas as células do organismo (STRATEN et al., 2015). As enzimas glutamino-sintetase (GS), que transformam a amônia e o glutamato em glutamina e, a glutaminase ou glutaminase ativada pelo fosfato (PAG), que fazem a reação inversa, são as principais enzimas que interferem no metabolismo da amônia no organismo. Sendo assim, a glutamina é considerada o aminoácido não essencial mais abundante no organismo e tem como principais funções doar e receber nitrogênio (WRIGHT et al., 2011).

2.3.1 Amônia

A amônia (NH_3 ; NH_4^+) é um produto da degradação de compostos nitrogenados e é considerada um indicador de diversas funções metabólicas. A amônia compreende a soma total de amônia livre (NH_3) e íons amônio (NH_4^+), que na sua forma livre é gasosa e hidrofílica, o que possibilita facilmente sua difusão pelas células através das membranas, já sua forma ionizada não é difundida com facilidade, necessitando de mecanismos de transporte mediados (COOPER, 2001).

Pode ser encontrada na atmosfera a partir da putrefação dos compostos nitrogenados, matéria vegetal e chuva. No organismo é absorvida por via entérica, principalmente como resultado da produção da microbiota intestinal e das reações de desaminação dos aminoácidos e da adenosina monofosfato (AMP) (HELLSTEN et al., 1999).

A amônia produzida no trato gastrointestinal é transportada até o fígado pelo sistema porta para que os hepatócitos possam através do ciclo da ureia transformar este composto em ureia. Portanto, quando existe aumento nas concentrações plasmáticas de amônia, conhecido como hiperamonemia, este é indicativo de que

exista alguma alteração hepática, dentre elas são citadas anomalias portovasculares como o DPS, falha na desintoxicação da amônia pelo fígado, que pode ocorrer por mudanças no pH, já que para o processo de metabolização ocorrer de forma adequada tem que existir a participação do bicarbonato e também, possíveis alterações no ciclo da ureia (LEVEILLE-WEBSTER et al., 2005). A diminuição da capacidade metabólica do fígado resulta na redução de 70% da capacidade de transformação da amônia em ureia para que ocorra sua excreção, e consequentemente, o animal desenvolverá hiperamonemia (CENTER; MAGNE, 1990; LEVEILLE-WEBSTER et al., 2005).

Outro sítio que desempenha importante papel no metabolismo da amônia é o músculo esquelético, o qual representa uma alternativa nos casos de falência hepática aguda e nos casos crônicos de comprometimento hepático. Os músculos utilizam a amônia e produzem glutamina. Este processo de utilização da amônia pelos músculos pode ser prejudicado caso a glutamina não seja aproveitada e transformada em amônia novamente pelos rins e baço. Portanto, indivíduos com massa muscular adequada sofrem menor influência da hiperamonemia do que aqueles que possuem atrofia da massa muscular (VAQUERO; BUTTERWORTH, 2007).

O aumento da amônia plasmática é considerado um dos principais fatores que desencadeiam as alterações neurológicas observadas na EH (FELIPO et al., 2012). Diversos mecanismos são descritos para explicar a ação da amônia no sistema nervoso central, dentre eles as interações endotélio cerebral e astrócitos, modificações no transporte através da barreira hematoencefálica, alterações no metabolismo energético, efeito neurotóxico direto sobre os astrócitos e diminuição da síntese do glutamato (BUTTERWORTH et al., 1988; FELIPO et al., 2012). Os astrócitos são as células responsáveis por metabolizar a amônia, promovem a conversão do glutamato e amônia em glutamina, tais vias podem resultar em estresse osmótico e promover aumento de tamanho dessas células, que por sua vez resulta em edema cerebral e hipertensão intracraniana, que irá desencadear então a EH (PRAKASH; MULLEN, 2010).

Apenas a hiperamonemia não explica todos os casos de EH em pessoas. Conforme já apresentado, sabe-se que a resposta inflamatória e o estresse oxidativo podem ter papel importante nessa síndrome (SEYAN et al., 2010). Porém, a amônia possui ação neutrofílica que irá aumentar o risco de desenvolvimento da inflamação

sistêmica (SHAWCROSS et al., 2010), além de induzir a neuroinflamação e ativação da micróglia (RODRIGO et al., 2010). Em cães, não existe comprovação científica de que a amônia potencializa os mediadores inflamatórios no sistema nervoso central. No entanto, sabe-se que cães com DPS congênito com hiperamonemia associada à síndrome da resposta inflamatória sistêmica apresentam maior probabilidade de desenvolver EH (TIVERS et al., 2014).

Com base no apresentado, a amônia pode ser um fator importante nos casos de encefalopatia, pois é oriunda do metabolismo intestinal que utiliza os componentes nitrogenados da dieta, especialmente as proteínas de origem animal, as quais apresentam maiores concentrações de aminoácidos aromáticos, por isso o grande interesse na utilização dos aminoácidos de cadeia ramificada (AACR), já que eles são consumidos no processo de desintoxicação da amônia (ROMERO-GOMEZ, 2005).

2.4 PROTEÍNA E DIGESTÃO PROTEICA

Berzelius no século XIX propôs a utilização do termo proteína, que tem como raiz a palavra grega *proteios*, que descreve componentes “de primeira classe” ou, “de principal importância” que existem na natureza para a manutenção da vida. Esse termo ainda é válido, visto que as proteínas exercem papéis fundamentais em todos os processos biológicos, como por exemplo: catálise enzimática, transporte e armazenamento de moléculas, movimento coordenado através da contração muscular, sustentação mecânica na composição da pele e ossos, proteção imunitária com a presença de anticorpos formados por proteínas, geração e transmissão de impulsos nervosos e o controle do crescimento, diferenciação e atividade das células (YEGAMBARAM et al., 2013). São definidas como compostos orgânicos complexos, de alto peso molecular e presentes em toda célula viva, possuem em sua estrutura carbono, hidrogênio e oxigênio, além de ampla porcentagem de nitrogênio. Em sua grande maioria, possuem enxofre, fósforo e ferro na sua composição.

Em animais monogástricos, a digestão das proteínas se inicia no estômago, através da ação do suco gástrico. Este é composto principalmente por água,

pepsinogênio, sais inorgânicos, mucina, ácido clorídrico (HCl) e o fator intrínseco. Sua secreção diminui o pH estomacal, que por sua vez promove a ativação da pepsina, a qual age nas ligações peptídicas adjacentes aos aminoácidos aromáticos fenilalanina, triptofano e tirosina, não obstante essa enzima ainda pode atuar na clivagem das ligações que envolvem os aminoácidos dicarboxílicos (ácido glutâmico e ácido aspártico). Tais ações resultam em proteínas parcialmente digeridas e polipeptídeos com cadeias de comprimento variável (SAKOMURA, 2014).

Esses produtos da digestão proteica estomacal passam ao intestino delgado, misturando-se com as secreções do duodeno, fígado e pâncreas. As enzimas secretadas no intestino só serão ativadas em pH entre 7 e 9. A presença da colecistoquinina no intestino estimula a secreção do suco pancreático que tem em sua composição tripsinogênio e bicarbonato, esse segundo componente aumenta o pH do ambiente intestinal e promove a transformação do tripsinogênio em tripsina. Esta por sua vez é altamente específica e age sobre as ligações peptídicas que estão presentes na lisina e arginina, além de ativar a quimiotripsina que irá clivar as ligações dos grupos carboxila da tirosina, triptofano, fenilalanina e leucina. Novamente, a tripsina ativa outros grupos de enzimas, as carboxipeptidases, que atuam na parte final da cadeia (SAKOMURA, 2014).

A absorção no intestino delgado não acontece com as proteínas em sua forma intacta, pois este órgão só consegue absorver aminoácidos livres, peptídeos e oligopeptídeos (constituídos entre dois e seis aminoácidos). Existem descritos quatro sistemas diferentes de transporte ativo de aminoácidos do lume à mucosa intestinal: para os aminoácidos neutros - glicina (Gly), alanina (Ala), serina (Ser), treonina (Thr), valina (Val), leucina (Leu), isoleucina (Ile); aminoácidos básicos - arginina (Arg), lisina (Lys), cistina (Cys), histidina (His); aminoácidos ácidos - ácido aspártico (Asp) e ácido glutâmico (Glu) e para Gly e os iminoácidos. Dessa forma, é possível observar que existe competição pelos sítios de absorção entre os aminoácidos de estrutura semelhante (SAKOMURA, 2014).

Levando em consideração o órgão de interesse, os aminoácidos afluem ao sangue portal e ao fígado, através da absorção no intestino delgado ligados a uma molécula de sódio na maioria dos tipos. No entanto, para a absorção da glicina, prolina e lisina esse co-transportador não é necessário.

2.5 AMINOÁCIDOS

Os animais sintetizam apenas alguns aminoácidos, o restante deve ser fornecido via dieta. Os essenciais não são sintetizados ou o são em quantidades inferiores às necessidades dos animais, enquanto que os não essenciais são sintetizados a partir do esqueleto de carbono da glicose ou de outros aminoácidos e também dos grupos amino de aminoácidos em excesso (NRC, 2006; SAKOMURA, 2014; FEDIAF, 2017).

As proteínas são compostas basicamente por aminoácidos, que nos cães, 10 são considerados essenciais: Histidina (His), Isoleucina (Ile), Leucina (Leu), Lisina (Lis), Metionina (Met), Fenilalanina (Fen), Treonina (Thr), Triptofano (Trp), Valina (Val) e Arginina (Arg). Dentre esses aminoácidos essenciais, três são de cadeia ramificada (AACR), isoleucina, leucina e valina (NRC, 2006; FEDIAF, 2017). O que determina o valor nutricional da proteína é a sua biodisponibilidade, que é definida como a proporção de aminoácidos ingeridos via dieta que são absorvidos pelo trato gastrointestinal. A eficiência de sua hidrólise irá determinar o grau de absorção dos aminoácidos individuais e contribui para seu valor nutricional (LEWIS; BAYLEY, 1995).

Os animais não possuem grande capacidade de estocar os aminoácidos livres, apenas por poucas horas, com isso esses compostos podem seguir caminhos diferentes no metabolismo, como síntese de aminoácidos não essenciais, por transaminação; podem ser precursores de compostos nitrogenados, como ácidos nucleicos, creatina, colina e tiroxina; utilizados como fonte de glicose, através da gliconeogênese, todos os aminoácidos não essenciais participam desse processo e recebem o nome de aminoácidos glicogênicos; além de glicose, podem ser convertidos em gordura (cetonas e corpos cetônicos) e recebem o nome de aminoácidos cetogênicos; e por fim, podem ser deaminados em CO₂, H₂O e energia e, o radical nitrogenado transformado em ureia ou ácido úrico (SAKOMURA, 2014).

Os AACR são importantes na manutenção do balanço proteico corporal, além de servirem como fonte de nitrogênio para a síntese de alanina e glutamina (ROGERO; TIRAPEGUI, 2008; ISHIKAWA, 2012; TAJIRI; SHIMIZU, 2013; KARAU; GRAYSON, 2014). Além dessas funções, esses aminoácidos parecem ter papel

fundamental, especialmente a leucina, na regulação dos processos anabólicos musculares. Shimomura e colaboradores (2006) demonstraram efeitos terapêuticos no seu uso como em situações de perda de massa magra durante a redução de massa corporal. Além disso, esses aminoácidos podem favorecer a cicatrização, melhorar o balanço proteico muscular em pacientes idosos e propiciar melhora nos quadros de doenças hepáticas e renais. Os AACR estimulam a síntese proteica hepática, por exemplo a leucina, que estimula o fator de crescimento dos hepatócitos, motivo pelo qual não se recomenda a restrição proteica e/ou AACR em pacientes com doença hepática, antes de se observar sinais de encefalopatia hepática (SHIMOMURA et al., 2006).

A grande maioria dos aminoácidos são oxidados primeiramente no tecido hepático, porém os AACR tem seu metabolismo mais ativo no músculo esquelético. Assim, o fígado desempenha apenas o papel de degradação dos cetoácidos. Esse metabolismo diferenciado ocorre porque as duas enzimas envolvidas neste processo, a enzima aminotransferase de aminoácidos de cadeia ramificada (ATAAR) e a desidrogenase de cetoácido de cadeia ramificada (DCCR), estão presentes na musculatura (SHIMOMURA; HARRIS, 2006; TAJIRI; SHIMIZU, 2013).

2.6 TERAPIA NUTRICIONAL

O objetivo do tratamento nutricional é diminuir a produção e absorção intestinal de toxinas (amônia, mercaptanos, ácidos graxos de cadeia curta, indóis, e aminas biogênicas) através da diminuição ou alteração da proteína dietética, modulação da microbiota intestinal e redução do tempo de transito intestinal (PROOT et al., 2009; MEYER et al., 2010; MARKS, 2012).

Em relação às proteínas dietéticas, aos animais que apresentam sinais de encefalopatia hepática é recomendado o uso de dietas restritas neste nutriente, entretanto não há estudos que comprovem os reais benefícios desse tipo de alimento nas hepatopatias que resultam em EH (MEYER et al., 2010; MARKS, 2012). Também é importante que a fonte proteica seja considerada no momento da escolha da melhor dieta. Cães com DPS congênito ao receberem dieta restrita em proteína com fonte proteica a base de soja apresentaram menores concentrações

plasmáticas de amônia, quando comparada com dieta também restrita em proteínas, porém com fonte proteica a base de carne de frango (PROOT et al., 2009). A teoria em relação a isso é que os grupamentos heme, ácidos nucleicos (RNA) e outras bases nitrogenadas contidas nas carnes contribuem para a exacerbação da EH e diminuição da sobrevida (MARKS, 2012) e que as dietas a base de fontes vegetais possuem mais fibra e aumentam a incorporação e eliminação de nitrogênio através das bactérias intestinais (WEBER et al., 1985; BONGAERTS et al., 2005).

Conhecer o perfil de aminoácidos da dieta oferecida a animais com DPS também parece ser fundamental ao êxito do tratamento, pois a redução na função hepática está associada ao aumento nas concentrações plasmáticas de aminoácidos aromáticos que não estariam sendo adequadamente retirados da circulação portal e metabolizados pelo fígado, assim como diminuição dos aminoácidos de cadeia ramificada, que estariam sendo mais utilizados pelo tecido muscular e adiposo (MARKS, 2012).

Além disso, sabe-se que a arginina, aminoácido essencial na alimentação de cães, é fundamental para a biotransformação da amônia em ureia, o que facilita a excreção renal destes compostos nitrogenados (MEYER et al., 2010). Além da arginina, uma dieta restritiva em proteína pode desencadear processo ineficiente de produção de outras proteínas importantes como a albumina, com as concentrações de albumina reduzidas o animal começa a apresentar sinais como acúmulo anormal de fluidos e ascite (MEYER et al., 2010).

Em relação a microbiota intestinal, é recomendada a utilização de fibras e compostos prebióticos na tentativa de se aumentar a fixação de nitrogênio entérico e consequentemente diminuir a absorção dessas toxinas pelos animais com DPS (MEYER et al., 2010). O uso de antibióticos na tentativa de modular a microbiota também pode ser recomendado, apesar de que alguns medicamentos, devido a insuficiência hepática, devem ser evitados (MARKS, 2012). Brum e colaboradores (2007) compararam a utilização da lactulose e de probiótico, isolados e associados no tratamento de um cão com DPS congênito e, concluíram que a utilização isolada do probiótico e da lactulose se mostraram eficazes, porém a terapia conjunta apresentou resposta satisfatória.

Devido as diversas teorias que existem sobre a influência da amônia, dos aminoácidos de cadeia ramificada, da inflamação sistêmica e estresse oxidativo no metabolismo dos animais portadores de DPS, fica claro que existe deficiência de

estudos para elucidar qual o papel da nutrição em auxiliar a melhora do quadro clínico. Dessa forma, o presente estudo objetiva estudar alguns aspectos relacionados a influência da dieta restrita em proteínas no metabolismo aminoacídico em cães com desvio portossistêmico atendidos na rotina clínica.

3 OBJETIVOS

3.1 PRINCIPAL

Avaliar os efeitos do emprego de um alimento com baixo teor de proteína no no perfil aminoacídico de cães portadores de desvio portossistêmico congênito.

3.2 SECUNDÁRIOS

Correlacionar o perfil de aminoácidos da dieta com o perfil sérico de aminoácidos dos cães com desvio portossistêmico congênito;

Avaliar a eficiência da dieta em aumentar os aminoácidos de cadeia ramificada em detrimento dos aminoácidos aromáticos na circulação;

Avaliar os efeitos da dieta no controle dos sinais clínicos e variáveis bioquímicas de cães com desvio portossistêmico congênito.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 COMITÊ DE ÉTICA

Este é um estudo clínico, conduzido de acordo com os princípios éticos de experimentação animal, sob aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais da FMVZ/USP (nº 6422260816), Conselho Hospitalar do HOVET/FMVZ/USP, chefia do Serviço de Clínica Médica do HOVET/FMVZ/USP, conselho gestor da Clínica All Care Vet e após prévia autorização dos proprietários dos cães incluídos na pesquisa, conforme o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido disponibilizado.

4.2 LOCAL DE CONDUÇÃO DO ENSAIO

O estudo foi realizado na rotina do Serviço de Clínica Médica do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e do Serviço de Gastroenterologia Canina e Felina da Clínica All Care Vet, ambos localizados na cidade de São Paulo - SP.

4.3 ANIMAIS

Foram selecionados nove cães de diferentes raças com diagnóstico clínico de desvio portossistêmico e nove cães da raça Yorkshire hígidos, provenientes do Serviço de Clínica Médica do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e do Serviço de Gastroenterologia Canina e Felina da Clínica All Care Vet. Os critérios para inclusão no estudo para os cães doentes foram possuir diagnóstico de desvio portossistêmico, não possuir nenhuma outra afecção concomitante e possibilidade dos proprietários em seguir o protocolo estabelecido para realização do estudo. Os critérios de inclusão no grupo controle foram cães hígidos, raça Yorkshire, escore de condição corporal entre 4 e 5 (LAFLAMME, 1997), que aceitassem alimento comercial e possibilidade dos responsáveis em seguirem o protocolo estabelecido pelo estudo.

Antes do início do tratamento, foram realizados exame físico, pesagem, determinação do ECC e escore de massa muscular (EMM), segundo Michel et al. (2011).

4.4 DIETA EXPERIMENTAL E MANEJO DIETÉTICO DOS ANIMAIS

Os animais receberam por 08 semanas um alimento hipoproteico formulado em software específico e extrusado na fábrica de rações da empresa Total Alimentos, na cidade de Três Corações, MG. Os teores nutricionais estão apresentados na tabela 2 e atenderam as recomendações do NRC (2006) e AAFCO (2009) para cães adultos, com exceção do teor de proteína. A dieta foi fornecida gratuitamente aos tutores dos animais selecionados e estes foram orientados a seguirem as recomendações do protocolo experimental. A quantidade de alimento foi calculada de acordo com as necessidades energéticas de manutenção (NEM) individuais de cada paciente, estimadas pela fórmula $NEM = 95 \times (\text{peso corporal})^{0,75}$ (NRC, 2006). Os proprietários foram instruídos a alimentarem o animal duas vezes ao dia. As reavaliações referentes ao manejo alimentar foram realizadas em intervalos de 15 dias.

Tabela 2 – Teores nutricionais do alimento empregado no estudo

Nutriente	Inclusão
Umidade	10%
Proteína bruta	14%
Extrato etéreo em hidrólise ácida	18%
Matéria fibrosa	3,5%
Matéria mineral	5,6%
Cálcio	0,7%
Fósforo	1,2%
Magnésio	0,09%
Sódio	0,15%
Potássio	0,7%
Cobre	0,0006%

Composição: arroz quebrado, proteína hidrolisada de soja, farelo de glúten de milho-60, milho integral moído, semente de linhaça, gordura de frango, óleo de peixe refinado, polpa de beterraba, mannanoligossacarídeos, inulina, cloreto de potássio, cloreto de sódio (sal comum), cloreto de colina, extrato de yucca schidigera, aditivo antioxidante (tocoferol e essência de alecrim), L-carnitina, DL-metionina, L-lisina, taurina, triptofano, fosfato bicálcico, ácido fólico, ácido pantotênico, betacaroteno, vitamina A, vitamina B12, vitamina B1, vitamina B2, vitamina B6, vitamina D, vitamina H, vitamina K, vitamina PP, vitamina E, vitamina C, ferro quelatado, cobre quelatado, manganês quelatado, levedura enriquecida com selênio, zinco quelatado, iodato de cálcio.

As análises de matéria seca, matéria mineral, proteína bruta, extrato etéreo em hidrólise ácida do alimento foram realizadas segundo AOAC (1995); Estas análises foram realizadas no Laboratório Químico da empresa Total Alimentos.

4.5 PROTOCOLO EXPERIMENTAL

As avaliações realizadas nos diferentes tempos experimentais estão representadas na figura 01.

Figura 1. Avaliações realizadas nos diferentes tempos experimentais

ECC - Escore de condição corporal; EMM - Escore de massa muscular

4.6 COLHEITA DE MATERIAL E EXAMES LABORATORIAIS

Foram realizadas coletas de sangue (5mL) de modo asséptico por venopunção das veias jugulares externas, cefálicas ou safenas. Na sequência, as amostras foram acondicionadas em frascos com EDTA para hemograma e outro com gel ativador de coagulação para obtenção de soro por centrifugação para as análises bioquímicas e aminogramas no primeiro dia (T0) e 60 dias após o início do tratamento (T60). Após a obtenção do soro, estas foram congeladas em freezer - 20°C. Todos os exames laboratoriais foram realizados seguindo técnicas

empregadas na rotina do Provet – Medicina Veterinária Diagnóstica, localizado na cidade de São Paulo/SP, conforme descrição nos tópicos 4.6.1 a 4.6.8.

4.6.1 Hemograma

Os hemogramas foram realizados em contador eletrônico, para uso veterinário, da marca ABX®, modelo ABC Vet. Os hematócritos foram determinados por meio de tubos microcapilares. A contagem diferencial dos leucócitos foi realizada por microscopia óptica de esfregaços sanguíneos.

4.6.2 Creatinina sérica

A creatinina sérica foi analisada através do emprego de kit comercial da marca Labtest, pelo método picrato alcalino.

4.6.3 Alaninoaminotransferase (ALT)

A ALT sérica foi analisada pelo emprego do kit comercial da marca Biosystems, pelo método IFCC.

4.6.4 Fosfatase alcalina (FA)

A FA foi analisada mediante o emprego de kit comercial da marca Biosystems, pelo método IFCC/SEQC.

4.6.5 Colesterol e Triglicérides

As análises de colesterol e triglicérides séricos foram realizadas com o emprego de kit comercial da marca Biosystems, pelo método glicerol fosfato oxidase/peroxidase.

4.6.6 Proteínas totais

As análises de proteínas totais foram realizadas através do kit comercial da marca Labtest, pelo método do biureto.

4.6.7 Albumina

A albumina foi determinada através do kit comercial da marca Labtest, pelo método verde de bromocresol.

4.6.8 Ureia

A ureia sérica foi determinada pelo método enzimático FS uréase GLDH utilizando kit comercial da marca Diasys.

4.6.9 Amônia

A amônia foi mensurada no plasma em até 30 minutos após a colheita de sangue em tubo heparinizado, sendo o plasma conservado à temperatura de -20°C até o momento da análise (KOGIKA et al., 1999). Foi utilizada metodologia analítica de eletrodo íon-específico proposta por Atili e colaboradores (1975).

4.7 DETERMINAÇÃO DOS AMINOÁCIDOS SÉRICOS E DA DIETA

As amostras de sangue dos animais experimentais foram coletadas conforme descrito no item 4.5 no início (dia 01) e no fim do estudo (dia 60). Após a extração do soro, as amostras foram mantidas a -80°C até serem encaminhadas para a análise. Estas foram analisadas através de cromatografia líquida de alta performance (HPLC)¹ em coluna LUNA C18 100Å 5u 250 x 4,6mm 00G-4252-EQ para aminoácidos totais e para aminoácidos livres em coluna HPLC Luna 3u C18(2) 100A 250 x 4,6mm 00G-4251-E0, baseado na técnica de White; Hart e Fry (1986). A leitura foi realizada em comprimento de onda de 254nm. Todas estas análises foram realizadas em duplicata pelo laboratório comercial CBO, localizado em Campinas, SP. Paralelo às análises de soro, foi realizada a análise de aminoácidos em uma amostra de 50g da dieta também pelo método HPLC.

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS

Para as análises dos hemogramas e bioquímicos, foi utilizado um modelo misto considerando os efeitos fixos de grupo (G), tempo (T) e interação G x T, além dos efeitos aleatórios de animal e resíduo. Nestas análises foi adotado estrutura de medidas repetidas nas mesmas unidades experimentais ao longo do tempo com variâncias heterogêneas entre grupos. A escolha de modelo contemplou diferentes estruturas de covariância, avaliadas pelos Critérios de Informação de Akaike (AIC) e Critério de Informação Bayesiano (BIC). O Teste de Razão de Verossimilhança (LRT) foi utilizado para escolha do modelo considerando variâncias heterogêneas entre os grupos. Para as análises de aminoácidos, foi utilizado um modelo misto considerando somente os efeitos fixos de grupo (G), além dos efeitos aleatórios de animal e resíduo. Nestas análises foi adotada estrutura de medidas repetidas nas mesmas unidades experimentais com variâncias homogêneas entre grupos. Em caso de resultados significativos para os efeitos fixos avaliados nas Análises de Variância, foi adotado o Teste de Tukey para comparação das médias. Todas as análises foram realizadas com o procedimento PROC MIXED do

¹ Agilent 1200 Series

programa *Statistical Analysis System*, versão 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ANIMAIS

Foram selecionados para o grupo teste nove cães com diagnóstico de desvio portossistêmico, machos ou fêmeas, com idade média e desvio padrão de $3 \pm 1,8$ anos, escore de condição corporal médio e desvio padrão de $3,78 \pm 0,45$, escore de massa muscular médio e desvio padrão de $2,8 \pm 0,45$, peso médio e desvio padrão de $4,14 \pm 2,88$ kg, sem qualquer outra afecção concomitante. Sete animais eram da raça Yorkshire, um Maltês e um Schnauzer. O grupo controle foi constituído por nove cães da raça Yorkshire, saudáveis, sem qualquer alteração clínica, com idade média de $3,1 \pm 1,96$ anos, escore de condição corporal médio e desvio padrão de $4,56 \pm 0,53$, escore de massa muscular médio e desvio padrão de $2,67 \pm 0,5$ e peso médio e desvio padrão de $3,05 \pm 0,80$ kg.

Durante os 60 dias de estudo, a maioria dos animais participantes apresentou boa aceitação do alimento, com exceção de um cão que desenvolveu hiporexia associada a alterações neurológicas, que após tratamento com metronidazol, probiótico, lactulose, vitamina k e silimarina estabilizou o quadro apresentado. Além desse, outro animal apresentou episódio de diarreia e ascite e, um terceiro apresentou cálculo vesical, todos pertencentes ao grupo Shunt. Em relação ao grupo controle, a ingestão do alimento teste foi satisfatória e não foram observadas alterações ao longo do estudo.

5.2 HEMOGRAMA E PERFIL BIOQUÍMICO

Os resultados obtidos através das análises do hemograma e do perfil bioquímico estão representados na tabela 3.

Tabela 3 – Valores de hemograma e exames bioquímicos observados nos grupos experimentais

Variáveis	Grupos		Tempo				Probabilidades			Valores de referência
	Controle (n=9)	Shunt (n=9)	T0	T60	Média	EPM	Grupo	Tempo	Grupo*Tempo	
Hematócrito (%)	52,61 ^A	46,39 ^B	49,76	49,24	49,50	6,01	0,0213	0,4426	0,8795	40 a 47
Proteína total (g/dL)	7,14 ^A	5,57 ^B	6,29	6,42	6,36	1,00	<0,0001	0,2547	0,1558	5,3 a 7,7
Leucócitos (mil/mm ³)	10,73	12,15	11,32	11,56	11,44	3,32	0,3394	0,7202	0,1839	8 a 16
Plaquetas (mil/mm ³)	285,17	235,11	265,61	254,67	260,14	66,20	0,0744	0,4569	0,4614	200 a 500
Uréia (mg/dL)	44,12 ^A	14,64 ^B	33,96 ^a	24,81 ^b	29,38	19,16	<0,0001	0,0019	0,0528	10 a 60
Creatinina (mg/dL)	0,74 ^A	0,58 ^B	0,66	0,66	0,66	0,16	0,0163	0,8901	0,7824	0,5 a 1,6
ALT (U/L)	85,44 ^B	191,50 ^A	144,94	132,00	138,47	114,47	0,0253	0,5867	0,1476	07 a 92
FA (U/L)	50,06 ^B	123,94 ^A	80,89	93,11	87,00	55,35	0,0004	0,2818	0,7426	10 a 155
Albumina (g/dL)	3,57 ^A	2,44 ^B	3,08 ^a	2,93 ^b	3,01	0,65	<0,0001	0,0088	0,6525	2,3 a 3,9
Globulinas (g/dL)	2,6700	2,77	2,69	2,75	2,72	0,35	0,5391	0,3851	0,0229	2,4 a 4,8
Amonia Jejum (μmol/L)	32,21 ^B	149,36 ^A	88,94	92,62	90,78	100,84	0,0083	0,7084	0,5057	20 a 80
Amônia pós-prandial (μmol/L)	25,32 ^B	176,03 ^A	91,57	109,77	100,67	124,43	0,0036	0,3482	0,4397	20 a 80
Colesterol (mg/dL)	181,00 ^A	112,67 ^B	139,33	154,33	146,83	52,56	0,0012	0,0717	0,7896	116 a 300
Triglicérides (mg/dL)	77,56	87,0100	68,68	95,88	82,28	95,18	0,8096	0,2961	0,3978	32 a 125

O hematócrito corresponde a porcentagem de volume ocupada pelos eritrócitos no sangue total. No presente estudo, os animais do grupo Controle apresentaram valores médios desse parâmetro acima do intervalo de referência para a espécie e diferiu ($p=0,0213$) em relação a probabilidade de grupo quando comparado ao grupo Shunt, o qual apresentou menores valores. Com relação às probabilidades de tempo e a interação grupo*tempo não houve diferença entre os grupos avaliados Strait e colaboradores (2005) descreveram que as causas mais frequentes de aumento de hematócrito ocorrem por erro pré-analítico, desidratação e contração esplênica, a qual pode ocorrer em resposta ao medo, excitação ou pânico. Essas situações estão associadas à liberação de catecolaminas que promovem aumento da quantidade de eritrócitos na circulação, sem alterações na concentração de proteínas plasmáticas (WATSON, 2000).

Os valores médios de proteína total obtidos no presente estudo corroboram a afirmativa acima, ou seja, mesmo com o aumento dos valores de hematócrito, os resultados de proteína plasmática total se mantiveram dentro dos valores de referência para os dois grupos estudados, com médias menores no grupo Shunt, sem diferenças quando analisado o tempo e a interação grupo*tempo. Ainda em relação aos hemogramas, as concentrações de leucócitos e plaquetas encontradas estão de acordo com os valores de referência estabelecidos pelo laboratório e não apresentaram diferença em nenhuma das análises realizadas.

Watson e Herrtage (1998) realizaram um estudo retrospectivo com 27 cães portadores de desvio portossistêmico congênito e observaram que os valores dos parâmetros hematológicos não modificaram com o avanço do tratamento instituído e, se mantiveram dentro do intervalo de referência, assim como os achados desta pesquisa. Já Niles e colaboradores (2004), avaliaram o perfil hematológico de 39 cães com DPS congênito. Nesse grupo, 46,2% apresentaram anemia; 15,4% leucocitose e 84,6% apresentaram hipoproteïnemia.

Nas avaliações bioquímicas realizadas, a concentração de ureia plasmática manteve-se dentro dos valores de referência, porém o grupo Controle apresentou maiores concentrações quando comparado ao grupo Shunt ($p<0,0001$). Na avaliação de tempo os grupos não diferiram, mas na interação grupo*tempo houve diferença ($p= 0,0528$; figura 3).

Figura 2 – Representação gráfica da interação grupo*tempo em relação à variável ureia

AB- Letras maiúsculas representam os tempos; ab – letras minúsculas representam os grupos

Na figura 3 é possível observar que o grupo Controle no T0 apresentou maior concentração de ureia do que no T60. Já em relação ao grupo Shunt, o tempo não influenciou nas concentrações séricas de ureia (T0 x T60). Pode-se observar ainda que os animais do grupo Controle apresentaram maiores concentrações desse metabólito quando comparadas com o grupo Shunt, nos dois tempos de coleta.

A desintoxicação da amônia é de extrema importância para a manutenção da homeostase e, esta ocorre principalmente por meio de duas vias principais, ciclo da ureia e síntese de glutamina, ambas no fígado. O ciclo da ureia é uma sequência de reações bioquímicas que convertem a amônia em ureia, responsável pelo descarte de mais de 90% do nitrogênio excedente proveniente de fontes endógenas ou alimentares (ROSKAMS et al., 2007). Em situações de diminuição da capacidade metabólica do fígado, a transformação de amônia em ureia pode ser reduzida em até 70% (JOHNSON; SHERDING, 2006), o que explica as menores concentrações encontradas nos animais portadores de DPS, o qual reduz a capacidade deste órgão de transformar amônia em ureia.

Com relação às concentrações de creatinina, observou-se diferença entre os grupos estudados ($p=0,0163$). Os animais do grupo Controle apresentaram concentrações maiores do que o grupo Shunt. Nada consta em literatura sobre possíveis justificativas para este achado. No entanto, o mais importante a ser avaliado é que os valores se mantiveram de acordo com o intervalo de referência, demonstrando que os animais em sua totalidade possuíam função renal normal.

Nos cães, a enzima alanina-aminotransferase (ALT) é hepatoespecífica com pequena atividade em outros tecidos. A ALT é localizada no citoplasma dos hepatócitos e liberada em situações de injúrias nas membranas celulares. Para sua liberação, a célula não necessariamente precisa estar danificada de forma irreversível e geralmente se eleva em quase todas as hepatopatias e a magnitude do seu aumento é proporcional ao número de hepatócitos lesados (JOHNSON; SHERDING, 2006). No presente estudo, os animais do grupo Shunt apresentaram concentrações maiores do que o intervalo de referência e os valores diferiram dos observados no grupo Controle ($p=0,0253$).

Kraun e colaboradores (2014) avaliaram 53 casos de DPS entre os anos de 2009 e 2012 e observaram que independentemente do tipo de DPS presente, todos os animais demonstraram aumento das concentrações de ALT, hipoproteinemia, hipocalcemia, hiperfosfatemia e hipoalbuminemia.

Outra enzima sensível para detecção de alterações hepáticas é a fosfatase alcalina (FA), porém apresenta baixa especificidade por associação a várias isoenzimas de diversos tecidos. No entanto, apenas a FA hepática e óssea alteram as concentrações séricas. O aumento na FA sérica se dá por colestase (JOHNSON; SHERDING, 2006). No presente estudo, a FA se comportou da mesma maneira que a ALT, o grupo Shunt apresentou concentrações mais altas quando comparado com o grupo Controle ($p= 0,0004$), corroborando os resultados encontrados no estudo de Simpson e colaboradores (1997). Os autores avaliaram o perfil hematológico de 25 cães com diagnóstico de shunt portossistêmico congênito antes e após a intervenção cirúrgica e observaram que 68% dos cães apresentaram concentrações tanto de FA quanto de ALT maiores do que os valores de referência.

A hipoalbuminemia é um achado comum nas hepatopatias crônicas graves e, geralmente ocorre quando há perda da capacidade funcional de pelo menos 80% dos hepatócitos e indica insuficiência hepática (WATSON; BUNCH, 2010). Os cães do grupo Shunt do presente estudo não apresentaram concentrações séricas de

albumina abaixo do valor de referência, mas estas se encontraram próximas ao limite inferior e diferiram dos valores encontrados no grupo Controle ($p < 0,0001$). Da mesma forma, as concentrações séricas de albumina no momento T60 foram menores do que as observadas no início do estudo (T0; $p = 0,0088$), provavelmente pelo fato dos animais consumirem alimentos com maior teor proteico antes do início do tratamento. A albumina plasmática é produzida exclusivamente pelo fígado e, representa de 55 a 60% da proteína plasmática total na maioria das espécies de mamíferos (NILES et al.; 2004). A hipoalbuminemia é uma das anormalidades mais comuns detectadas em animais com DPS congênito, embora seja mais comum em gatos do que em cães (NILES et al.; 2004). Este mesmo grupo de pesquisadores citados anteriormente avaliaram 39 cães que possuíam diagnóstico de shunt portossistêmico e 21 deles apresentaram hipoalbuminemia

As concentrações de globulina apresentaram diferença quando se avaliou a interação grupo*tempo ($p = 0,0229$; figura 4). O grupo Controle no momento T0 apresentou menor concentração de globulina sérica do que no T60, já o grupo Shunt não apresentou diferença entre os dois tempos avaliados.

Figura 3 – Representação gráfica da interação grupo*tempo da variável globulina

AB- Letras maiúsculas representam os tempos; ab – letras minúsculas representam os grupos

As globulinas séricas totais representam a soma das imunoglobulinas e das não imunoglobulinas e, muitas delas são sintetizadas e armazenadas no fígado. Estas são em sua grande maioria reagentes à fase aguda das doenças, por isso sua produção hepática aumenta em resposta à fase inicial da doença hepática inflamatória crônica e, diminui com a progressão da doença (LIDBURY; STEINER, 2013).

Como descrito anteriormente, o fígado possui papel fundamental na detoxificação da amônia, dessa maneira em situações de hiperamonemia deve-se suspeitar de falência hepática ou de DPS (LEVEILLE-WEBSTER et al., 2005). No presente estudo, as concentrações de amônia em jejum e pós-prandiais dos animais demonstram que os cães do grupo Controle apresentaram valores dentro do intervalo de referência para a espécie, enquanto os animais do grupo Shunt apresentaram hiperamonemia tanto em jejum quanto pós alimentação, cujos valores diferiram nos momentos e entre os grupos ($p=0,0083$; $p=0,0036$).

Matan e colaboradores (2017) compararam as concentrações de amônia sanguínea e do líquido cerebroespinal, que também pode prever o metabolismo hepático de cães portadores de shunt portossistêmico ($n=19$) e compararam os resultados encontrados com outro grupo constituído por cães saudáveis ($n=6$). O grupo com a alteração morfológica apresentou concentrações de amônia maiores do que o grupo controle, cujos valores estavam acima do intervalo de referência para a espécie.

Proot e colaboradores (2009), ao avaliarem duas dietas hipoproteicas para animais com *shunt* portossistêmico congênito, uma a base de soja e a outra formulada com carne de aves concluíram que após os animais receberem a dieta a base de fonte proteica vegetal, as concentrações séricas em jejum de amônia diferiram quando comparada ao início do estudo e aos valores encontrados após o fornecimento da dieta a base de carne de aves. No presente estudo, os animais receberam um alimento formulado com proteína de origem vegetal (proteína hidrolisada de soja) e não apresentaram redução das concentrações de amônia, no entanto, houve controle dos sinais clínicos de encefalopatia hepática.

A hipocolesterolemia é comum em quadros de insuficiência hepática devido à incapacidade de síntese de colesterol por parte do fígado ou pela deficiência de proteínas plasmáticas transportadoras de colesterol (lipoproteínas) que são formadas nos enterócitos e hepatócitos (PRATSCHKE, 2010). Tal alteração também

foi observada no presente estudo, onde os animais do grupo Shunt apresentaram concentrações de colesterol sérico abaixo do intervalo de referência para a espécie e esses valores diferiram em relação aos encontrados no grupo Controle ($p=0,0012$).

5.3 CONCENTRAÇÃO SÉRICA DOS AMINOÁCIDOS ESSENCIAIS E NÃO ESSENCIAIS

Os resultados referentes às concentrações séricas dos aminoácidos essenciais, não essenciais e algumas relações estão apresentados na tabela 4.

A dieta do presente estudo por possuir inclusão de fontes proteicas vegetais possui maior proporção de aminoácidos de cadeia ramificada (leucina, isoleucina e valina), o que resultou em aumento da concentração sérica desses três aminoácidos após a ingestão do alimento, durante o período de 60 dias, embora não significativo. É possível que o fornecimento por um período maior pudesse resultar em aumento significativo desses metabólitos. Dentre os aminoácidos essenciais apenas a fenilalanina apresentou diferença, os outros obtiveram aumento da concentração no grupo Shunt em relação ao início do tratamento, porém não houve diferença. Brunetto e colaboradores (2007) relataram que o aumento dos aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina e triptofano) em relação aos aminoácidos de cadeia ramificada (leucina, isoleucina e valina) pode ser o fator responsável pelo desenvolvimento de encefalopatia hepática (EH).

As concentrações do aminoácido aromático fenilalanina nos animais do grupo Shunt foram maiores do que os animais do grupo controle, tanto no T0 quanto no T60 ($p=0,0054$), achados que corroboram os resultados obtidos por Watanabe e colaboradores (1995) ao avaliarem as concentrações de amônia e aminoácidos no sangue e no líquido cefalorraquidiano de cães com fístula de Eck. Neste estudo, os autores demonstraram que as concentrações séricas de aminoácidos aromáticos desses animais eram maiores do que as de aminoácidos de cadeia ramificada.

A degradação da fenilalanina, que ocorre predominantemente no fígado, resulta em tirosina, dessa forma o comportamento da concentração sérica desse aminoácido acompanha o comportamento da fenilalanina. No presente estudo, o grupo Shunt não apresentou diferença entre os momentos (T0 x T60) em relação a

ingestão do alimento teste, mas quando se comparou com grupo Controle, os animais do grupo Shunt apresentaram maiores concentrações ($p=0,0106$).

Tabela 4 - Concentrações de aminoácidos séricos essenciais e não essenciais observados nos grupos experimentais

Variáveis	Controle (n=9)	Shunt (n=9)		EPM	P
	T60	T0	T60		
Aminoácidos essenciais séricos (µmol/L)					
Arginina (ARG)	148,26	101,79	118,33	16,37	0,1348
Histidina (HIS)	61,99	124,00	125,71	18,25	0,1009
Isoleucina (ILE)	56,09	46,88	51,14	12,96	0,5757
Leucina (LEU)	115,88	93,34	109,74	26,99	0,2917
Lisina (LYS)	191,54	203,37	213,00	38,64	0,8587
Metionina (MET)	44,25	97,32	104,96	19,89	0,1343
Fenilalanina (PHE)	60,15 ^B	201,57 ^A	224,35 ^A	25,48	0,0054
Treonina(THR)	84,88	68,63	71,23	17,51	0,7787
Valina (VAL)	142,91	118,20	127,60	34,67	0,4285
Aminoácidos não essenciais séricos (µmol/L)					
Alanina (ALA)	473,87 ^A	305,78 ^B	344,64 ^{AB}	35,94	0,0280
Asparagina (ASN)	13,04	73,59	73,17	18,29	0,1228
Glicina (GLY)	193,22	438,65	453,69	80,45	0,1298
Glutamato (GLU)	18,26 ^B	85,05 ^A	70,45 ^A	11,10	0,0066
Glutamina (GLN)	126,98	524,10	554,66	115,29	0,0762
Prolina (PRO)	146,08	271,70	274,07	48,60	0,227
Serina (SER)	76,54 ^B	227,13 ^B	287,00 ^A	42,32	0,0054
Taurina (TAU)	129,88	356,30	295,00	82,67	0,1529
Tirosina (TYR)	62,32 ^B	158,6 ^A	180,56 ^A	22,34	0,0106
Razão de Fischer	2,41 ^A	0,66 ^B	0,66 ^B	0,29	0,0093
BCAA	314,88	258,42	288,48	73,97	0,2662
AAE	905,94	1055,11	1146,06	183,46	0,1937
AANE	1240,2	2440,89	2533,24	772,33	0,4024
AAE/AANE	0,75	0,48	0,49	0,10	0,2272
BTR	4,82 ^A	1,49 ^B	1,49 ^B	0,67	0,0243

EPM – Erro padrão da média; Razão de Fischer – razão entre aminoácidos de cadeia ramificada e aminoácidos aromáticos; BCAA - aminoácidos de cadeia ramificada; AAE – aminoácidos essenciais; AANE – aminoácidos não essenciais; BTR – razão entre os aminoácidos de cadeia ramificada e tirosina;

A alanina é um dos aminoácidos não essenciais mais solúveis e, desempenha papel importante no ciclo da glucose-alanina entre os vários tecidos e o fígado, nos músculos, por exemplo degradam aminoácidos para obtenção de energia, o glutamato por transaminação transfere o grupo amina para o piruvato através da alanina aminotransferase, originando alanina e cetoglutarato. Nas doenças hepáticas crônicas, as concentrações de alanina estão diminuídas principalmente pelo menor metabolismo hepático (D'Mello, 2003). No presente estudo, os animais do grupo Shunt no T0 apresentaram menores concentrações séricas desse aminoácido do que os do grupo Controle, no entanto, as concentrações de alanina aumentaram no momento T60 nos animais com DPS e passaram a não diferir do grupo Controle, o que demonstra melhora nas concentrações deste aminoácido com o consumo da dieta empregada no estudo durante 60 dias.

O glutamato participa do metabolismo da amônia no cérebro formando glutamina, essa via metabólica representa uma forma temporária de proteção contra a toxicidade da amônia, dessa forma as concentrações de glutamato e glutamina aumentam de forma significativa em situações de hiperamonemia (ZAVARIZE et al., 2010). Com base na tabela 4, as concentrações séricas de glutamato dos cães do grupo Shunt nos tempos T0 e T60 estudados foram maiores ($p=0,0066$) quando comparadas às do grupo Controle, o que demonstra que os cães ativaram a via de proteção glutamato-glutamina em resposta ao aumento das concentrações de amônia.

As concentrações séricas de serina, outro aminoácido não essencial, não diferiram entre os grupos no momento T0, mas diferiu no momento T60, no grupo Shunt ($p=0,0054$). Os valores séricos dos aminoácidos não essenciais asparagina, glicina, glutamina, prolina e taurina não diferiram quando comparados os grupos Controle x Shunt e nem entre os momentos (T0 x T60).

Em 1976, Fischer e colaboradores relataram que a razão molar entre os aminoácidos de cadeia ramificada e os aminoácidos aromáticos é importante para se avaliar as funções hepáticas, a severidade das suas disfunções e status da nutrição proteica. Os autores apontaram que a concentração sérica de albumina e a razão de Fischer diminuem à medida que a hepatite crônica progride para cirrose. No presente estudo foi calculada a razão de Fischer e, pode-se constatar que os seus valores corroboram com o descrito, já que os animais que possuem o DPS apresentaram menores valores dessa razão ($p=0,0093$) quando comparados ao

grupo controle. A dieta avaliada neste estudo não se mostrou eficiente em aumentar os valores dessa razão, o que significaria melhor prognóstico da doença hepática, porém se manteve constante, o que significa que a doença também não progrediu.

Diversos autores demonstraram que a razão entre os aminoácidos de cadeia ramificada e a tirosina em humanos pode ser um importante preditor de avaliação do metabolismo proteico, a albumina sempre exerceu essa função.

Suzuki e colaboradores (2008) avaliaram 447 pacientes com hepatopatias crônicas, 313 com hepatite crônica e 134 com cirrose hepática, com o objetivo de esclarecer se a razão da concentração sérica de aminoácidos de cadeia ramificada e tirosina (BTR) teria correlação positiva com a concentração sérica de albumina. Após análises concluíram que apenas 1,3% dos pacientes com hepatite crônica e 18,3% dos pacientes cirróticos apresentavam hipoalbuminemia, já em relação ao BTR, este se mostrou alterado mesmo em pacientes sem hipoalbuminemia; 3,8% dos pacientes com hepatite crônica, 39% dos cirróticos e 13,8% com hepatopatia crônica apresentavam essa alteração. Além disso, após acompanhamento de um ano a concentração sérica de albumina diminuiu nos pacientes que já tinham apresentado desequilíbrio no BTR. Dessa forma os autores consideraram que o BTR pode ser utilizado como um marcador precoce de hipoalbuminemia.

Com o mesmo objetivo de verificar a eficácia da utilização do BTR, Ishikawa (2012) realizou uma revisão para esclarecer se o BTR poderia servir como fator prognóstico para o tratamento de pacientes com carcinoma hepatocelular. Após extensa revisão, onde demonstra diversas formas de aplicação do BTR concluiu que seria útil a utilização desse parâmetro para avaliação das condições e evolução das doenças hepáticas.

Com o presente exposto foi calculado o BTR, com o objetivo de prever uma possível hipoalbuminemia nos animais selecionados, já que apesar da doença crônica hepática, os cães não apresentaram diminuição da albumina sérica. Quando calculado o BTR, foi possível observar que os animais do grupo Shunt (T0 e T60) apresentaram menores valores ($p=0,0243$) quando comparados ao grupo controle, porém T0 e do T60 eles tiveram os mesmos valores, o que podemos afirmar que não houve progressão da doença hepática, se mostrando eficiente o manejo nutricional implementado que impediu que o tecido hepático fosse ainda mais lesado. A alanina é um dos aminoácidos não essenciais mais solúveis e, desempenha papel importante no ciclo da glucose-alanina em diferentes tecidos e

no fígado, nos músculos por exemplo, degradam aminoácidos para obtenção de energia. O glutamato, por transaminação, transfere o grupo amina para o piruvato através da alanina aminotransferase e por essa reação, origina alanina e cetoglutarato (D'Mello, 2003). Nas doenças hepáticas crônicas as concentrações de alanina estão diminuídas, principalmente pela redução do metabolismo hepático (LEVEILLE-WEBSTER et al., 2005; KREHBIEL; MATTHEWS, 2003). No presente estudo, os animais do grupo shunt em T0 apresentaram menores concentrações de alanina do que os do grupo controle, porém no momento T60 os resultados foram semelhantes entre os grupos, o que demonstra melhora nas concentrações deste aminoácido com o consumo da dieta teste, por 60 dias.

O glutamato participa do metabolismo da amônia no cérebro e origina glutamina. Essa via metabólica representa um meio temporário de proteção contra a toxicidade da amônia, dessa forma, as concentrações de glutamato e glutamina aumentam de forma significativa com a presença de hiperamonemia (ZAVARIZE et al., 2010). Com base nos resultados ora aqui observados as concentrações séricas de glutamato dos cães do grupo shunt nos tempos T0 e T60 foram maiores ($p=0,0066$) quando comparados ao grupo controle. Esse achado demonstra que os cães desenvolveram essa via de proteção em função do aumento das concentrações de amônia em jejum e pós-prandial, nos momentos T0 e T60.

As concentrações séricas de serina, outro aminoácido não essencial, foram grupo controle foram semelhantes estatisticamente do grupo shunt no T0 e diferente do grupo T60 ($p=0,0054$).

Os aminoácidos não essenciais asparagina, glicina, glutamina, prolina e taurina não tiveram diferença quando comparou-se os grupos controle, shunt T0 e T60.

Em 1976, Fischer e colaboradores relataram que a razão molar entre os aminoácidos de cadeia ramificada e os aminoácidos aromáticos são importantes para avaliar as funções hepáticas, a severidade das suas disfunções e o status da nutrição proteica. As concentrações séricas de albumina e a razão de Fischer diminuem à medida que a hepatite crônica progride para a cirrose hepática. No presente estudo foi calculada a razão de Fischer e, ela demonstrou que os seus valores corroboram com o descrito, já que os animais que possuem o shunt portossistêmico possuíram valores dessa razão menores ($p=0,0093$) quando comparados ao grupo controle. A dieta proposta neste estudo não se mostrou eficiente em aumentar os valores dessa razão, o que significaria melhor prognóstico

da doença hepática, porém se manteve constante, o que significa que a doença também não progrediu.

Diversos autores demonstraram que a razão entre os aminoácidos de cadeia ramificada e a tirosina em humanos pode ser um importante preditor de avaliação do metabolismo proteico e, a albumina sempre exerceu essa função.

Suzuki e colaboradores (2008) avaliaram 447 pacientes com hepatopatias crônicas, 313 com hepatite crônica e 134 com cirrose hepática, com o objetivo de esclarecer se a razão da concentração sérica de aminoácidos de cadeia ramificada e tirosina (BTR) teria correlação positiva com a concentração sérica de albumina. Após as análises concluíram que apenas 1,3% dos pacientes com hepatite crônica e, 18,3% dos pacientes cirróticos apresentavam hipoalbuminemia, já para o BTR ele se mostrou alterado mesmo em pacientes sem hipoalbuminemia, 3,8% dos pacientes com hepatite crônica, 39% dos cirróticos e 13,8% com hepatopatia crônica apresentavam essa alteração. Além disso, após o acompanhamento durante um ano, as concentrações séricas de albumina diminuíram nos pacientes que já haviam apresentado desequilíbrio no BTR. Dessa forma os autores consideraram que o BTR pode ser utilizado como um marcador precoce de hipoalbuminemia.

Com o mesmo objetivo de se verificar a eficácia da utilização do BTR, Ishikawa (2012) realizou uma revisão para esclarecer se o BTR poderia servir como fator prognóstico para o tratamento de pacientes com carcinoma hepatocelular. Após extensa revisão, onde demonstrou diversas formas de aplicação do BTR concluiu que seria útil a utilização desse parâmetro para avaliação das condições e evolução das doenças hepáticas.

Com o presente exposto foi calculado o BTR no presente estudo, com o objetivo de se prever uma possível hipoalbuminemia nos animais selecionados, já que apesar de serem portadores de doença crônica hepática, os mesmos não apresentaram diminuição da albumina sérica. Quando calculado o BTR com os dados do presente estudo foi possível observar que os animais do grupo shunt T0 e T60 apresentaram menores valores ($p=0,0243$) quando comparados ao grupo controle, porém do T0 e do T60 eles tiveram os mesmos valores, o que podemos afirmar que não houve progressão da doença hepática, se mostrando eficiente o manejo nutricional implementado que impediu que o tecido hepático fosse ainda mais lesado.

6 CONCLUSÕES

A dieta instituída no tratamento não foi eficiente em aumentar os aminoácidos de cadeia ramificada em detrimento dos aminoácidos aromáticos, porém com a manutenção das concentrações séricas dos aminoácidos, da razão de Fischer e do BTR foi possível concluir que o manejo dietético foi eficiente em prevenir a progressão da doença e controlar os sinais clínicos. Os cães com shunt naturalmente adquirido demonstraram apresentar a via protetora à hiperamonemia do glutamato e glutamina, aspecto ainda não relatado em animais nessa condição.

REFERÊNCIAS

- AAFCO - ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIAL. Dog and Cat food substantiation methods, Oxford, 2009, p.124-126.
- ALDRIDGE, D.R.; TRANAH, E.J.; SHAWCROSS, D.L. Pathogenesis of hepatic encephalopathy: role of ammonia and systemic inflammation. **Journal of Clinical and Experimental Hepatology**, v. 5, n. S1, p.S7-S20, 2015.
- ALLEN, L.; STOBIE, D.; MAULDIN, G.N, et al. Clinicopathologic features of dogs with hepatic microvascular dysplasia with and without portosystemic shunts:42 cases (1991-1996). **Journal of the American Veterinary Association**, v. 214, n. 2, p. 218-220, 1999.
- AOAC – ASSOCIATION OF THE OFFICIAL ANALITICAL CHEMISTS. Official and tentative methods of analysis. 16. ed. Arlington, Virginia: AOAC International, 1995, p. 16-19.
- ATTILI, A. F.; AUTIZI, D.; CAPOCACCIA, L. Determinação rápida de ammonia em plasma utilizando eletrodo íon específico. **Biochemical Medicine**, v. 14, p. 109-116, 1975.
- BAKER, H. D. Comparative Nutrition and Metabolism: Explication of open questions with emphasis on protein and amino acids. **Agricultural Sciences**. v. 102, n.50, p. 17897–17902, 2005.
- BERENT, A. C.; TOBIAS, K. M. Portosystemic Vascular Anomalies. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 39, n. 3, p. 513-541, 2009.
- BIRCHARD, S. J.; SHERDING R. G. **Manual Saunders**. Clínica de pequenos animais. 2. ed. São Paulo: Roca LTDA, 2003. p. 972 - 974.
- BONELLI, M. A. et al. Shunt portossistêmico em cães e gatos. **Medicina Veterinária**, Recife, v. 2, n. 2, p. 44-50, abr/jun. 2008.
- BRUM, A. M.; CHAMPION, T.; ZANATTA, R.; COSTA, M.T.; CANOLA, J.C. Utilização de probiótico e de lactulose no controle de hiperamonemia causada por desvio vascular portossistêmico congênito em um cão. **Ciência Rural**, v. 37, n. 2 p. 572-574, 2007.
- BRUNETTO, M. A.; TESHIMA, E.; NOGUEIRA, S. P.; JEREMIAS, J. T.; CARCIOFI, A. C. Manejo nutricional nas doenças hepáticas. **Acta Scientiae Veterinariae**. v. 35, p. s223-s235, 2007.
- BUNCH, S. E.; JORDAN, H. L.; SELLON, R. K. et al. Characterization of iron status in Young dogs with portosystemic shunt. **Am. J. Vet. Res.**, v. 56, p. 853-858, 1995.
- CAMIRE, M.E.; CAMIRE, A.; KRUMHAR, K. Chemical and nutritional changes in foods during extrusion. **CRC Critical Review in Food Science and Nutrition**, v.29, n.1, p.35–57, 1990.

CAPORASO JG, KUCZYNSKI J, STOMBAUGH J, BITTINGER K, BUSHMAN FD, COSTELLO EK, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. **Nat Methods**. v.7, n. 5, p. 335-336, 2010.

CENTER, S. A. Serum bile acids in companion animal medicine. **Vet Clin North Am Small Anim Pract**, v. 23, p. 625-657, 1993.

CENTER, S. A.; MANWARREN, T.; SLATER, M. R. et al. Evaluation of twelve-hour preprandial and two-hour postprandial serum bile acid concentrations for diagnosis of hepatobiliary disease in dogs. **J Am Vet Med Assoc**, v. 199, p. 217-226, 1991.

CENTER, S. A.; MAGNE, M. L. Historical, physical examination, and clinicopathologic features of portosystemic vascular anomalies in the dog and cat. **Semin Vet Med Surg (Small Anim)**, v.5, p. 83-93, 1990.

CONDON, R.E. Effect of dietary protein on symptoms and survival in dogs with an Eck fistula. *American Journal of Surgery*, v.121, p.107-114, 1971

COOPER, A. J. Role of glutamine in cerebral nitrogen metabolism and ammonia neurotoxicity. **Ment Retard Dev Disabil Res Ver**. v. 7, n. 4, p. 280-286, 2001.

CULLEN, J.; VAN DEN INGH, T.; BUNCH, S.; ROTHUIZEN, J.; WASHABAU, R.; DESMET, V. Morphological classification of circulatory disorders of the canine and feline liver. In *WSAVA Standards for Clinical and Histological Diagnosis of Canine and Feline Liver Diseases*. Saunders Elsevier, p. 41-59, 2006.

DANIEL, G.B. Scintigraphic diagnosis of portosystemic shunts. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 39, n. 4, p.793-810, 2009.

ETTINGER S.J.; FELDMAN E.C. **Tratado de medicina interna veterinária: doenças do cão e do gato**. 5. ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p. 2156, 2004.

FALLS, E. L.; MILOVANCEV, M.; HUNT, G. B.; DANIEL, L.; MEHL, M. L.; SCHMIEDT, C. W. Long-term outcome after surgical ameroid ring constrictor placement for treatment of single extrahepatic portosystemic shunts in dogs. **Veterinary Surgery**, v. 42, p. 951-957, 2013.

FERENCI, P.; LOCKWOOD, A.; MULLEN, K. et al. Hepatic encephalopathy definition, nomenclature, diagnosis, and quantification: final report of the working party at the 11th World Congresses of Gastroenterology, Vienna, 1998. **Hepatology**, v.35, n. 3, p. 716-721, 2002.

FRYER, K.J.; LEVINE, J.M.; PEYCKE, L.E. et al. Incidence of postoperative seizures with and without levetiracetam pretreatment in dogs undergoing portosystemic shunt attenuation. **J Vet Int Med**, v. 25, n. 6, p. 1379-1384, 2011.

GERRITZEN-BRUNING, M. J.; VAN DEN INGH, T. S.; ROTHUIZEN, J. Diagnostic value of fasting plasma ammonia and bile acid concentrations in the identification of portosystemic shunting in dogs. **J. Vet. Intern. Med.**, v. 20, p. 13-19, 2006.

GORLA JUNIOR, J. A.; FAGUNDES, D. J.; PARRA, O. M.; ZAIA, C. T. B.; BANDEIRA, C. O. P. Fatores hepatotróficos e regeneração hepática. Parte II: fatores de crescimento / Hepatotrophic factors and liver regeneration. Part II: growth factors. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 16, n. 4, p. 261-266, 2001.

GOW, A.G.; MARQUES, A.I.; YOOL, D.A.; CRAWFORD, K.; WARMAN, S.M.; ECKERSALL, P.D.; JALAN, R.; MELLANBY, R.J. Dogs with congenital porto-systemic shunting (cPSS) and hepatic encephalopathy have higher serum concentrations of C-reactive protein than asymptomatic dogs with cPSS. **Metabolic Brain Disease**, v.27, n. 2, p. 227-229, 2012.

GREENHALGH, S. N.; DUNNING, M. D.; MCKINLEY, T. J.; GOODFELLOW, M. R.; FREITAG, T.; O'NEIL, E. J.; SALÃO, E. J.; WATSON, P. J.; JEFFERY, N. D. Comparison of survival after surgical or medical treatment in dogs with a congenital portosystemic shunt. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 236, n. 11, p. 1215-1220, 2010.

GREENHALGH, S. N.; REEVE, J. A.; JOHNSTONE, T.; GOODFELLOW, M. R.; DUNNING, M. D.; O'NEILL, E. J.; HALL, E. J.; WATSON, P. J.; JEFFERY, N. D. Long-term survival and quality of life in dogs with a congenital portosystemic shunt after surgical or medical treatment. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 245, n. 5, 2014.

HELLSTEN, Y.; RICHTER, E.A.; KIENS, B.; BANGSBO, J. AMP deamination and purine Exchange in human skeletal muscle during and after intense exercise. **J. Physiol.** v.520, p. 909-920, 1999.

HUNT, G.B.; KUMMELING, A.; TISDALL, P. L.; MARCHEVSKY, A. M.; LIPTAK, J. M.; YOUMANS, K. R.; GOLDSMID, S. E.; BECK, J. A. Outcomes of celofane banding for congenital portosystemic shunts in 106 dogs and 5 cats. **Veterinary Surgery**, v. 33, p. 25-31, 2004.

HUNT, G.B.; TISDALL, P.L.; WEBB, A.; MACPHERSON, G.C.; BRAIN, P.; MALIK, R. Congenital portosystemic shunts in toy and miniature poodles. **Australian Veterinary Journal**, v. 78, n. 8, p. 530-532, 2000.

ISHIKAWA, T. Branched-chain amino acid to tyrosine ratio value as a potential prognostic factor for hepatocellular carcinoma. **World Journal of Gastroenterology**, v. 18, n. 17, p. 2005-2008, 2012.

ISOBE, K.; MATSUNAGE, S.; NAKAYAMA, H. Histopathological characteristics of hepatic lipogranulomas with portosystemic shunt in dogs. **J. Vet. Med. Sci.**, v. 70, n. 2, p. 133-138, 2008.

JAMES JH, ZIPARO V, JEPSSON B, FISCHER JE. Hiperamoniemia, plasma desequilíbrio de aminoácidos, e o transporte de aminoácidos sangue-cérebro: uma teoria unificada da encefalopatia portal sistêmica. **Lanceta**. v. 2 n. 772, 1979.

JOHNSON, S. E.; SHERDING, R. G. Diseases of the liver and the biliary tract. In: BIRCHARD, S. J.; SHERDING, R. G. **Saunders Manual of Small Animal Practice**. 3 ed. Philadelphia, USA: Elsevier Inc. 2006, cap. 71, p. 747-809.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 10ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

KREHBIEL, C. R.; MATTHEWS, J. C. Absorption of Amino Acids and Peptides. In: D'MELLO, J. P. F. **Amino acids in animal nutrition**, Second edition, p. 41-71, 2003.

KIM, S. E.; GIGLIO, R. F. REESE, D. J.; REESE, S. L.; BACON, N. J.; ELLISON, G. W. Comparison of computed tomographic angiography and ultrasonography for the detection and characterization of portosystemic shunts in dogs. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v. 54, n. 6, p.569-574, 2013.

- KOGIKA, M. M.; MATSUURA, S.; HAGIWARA, M. K.; MIRANDOLA, R. M. S.; ORTOLANI, E. L. Evaluation of preprandial and postprandial sérum bile acids and plasma ammonia concentration in healthy dogs, and the effects of frozen storage on plasma ammonia concentrations. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 36, n. 1/3, p. 28-33, 1999.
- KUMMELING, A.; TESKE, E.; ROTHUIZEN, J. et al. Coagulation profiles in dogs with congenital portosystemic shunts before and after surgical attenuation. **J. Vet. Intern. Med.**, v. 20, p. 1319-1326, 2006.
- KUMMELING, A.; VAN SLUIJS, F. J.; ROTHUIZEN, J. Prognostic implication of the degree of shunt narrowing and of the portal vein diameter in dogs with congenital portosystemic shunts. **Veterinary Surgery**, v. 33, p. 17-24, 2004.
- LAFLAMME, D.P. Development and validation of a body condition score system for dogs. **Canine Practice**, v.22, p.10-15, 1997.
- LAMB, C. R.; DANIEL, G. B. Diagnostic imaging of dogs with suspected portosystemic shunting. **Compensium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v. 24, n. 8, p.626-635, 2002.
- LAMB, C.R.; WHITE, R.N. Morphology of congenital intrahepatic portacaval shunts in dogs and cats. **Veterinary Record**, v.142, n. 3 p. 55-60, 1998.
- LEWIS, A. J.; BAYLEY, H. S. Amino acid bioavailability. In AMMERMAN, C. B.; BAKER, D. H.; LEWIS, A. J. **Bioavailability of Nutrients for Animals – Amino Acids, Minerals, Vitamins**, Academic Press, San Diego, Ca, p. 35-65, 1995.
- LEVEILLE-WEBSTER C. History, clinical signs, and physical findings in hepatobiliary disease. In: EttingerSJ, FeldmanEC, eds.**Textbook of Veterinary Internal Medicine**. 6th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; p. 1422-1434, 2005.
- LIDBURY, J.A.; COOK, A.K.; STEINER, J.M. Hepatic encephalopathy in dogs and cats. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 26, n. 4, p. 471-487, 2016.
- LIDBURY, J. A.; STEINER, J. M. Diagnostic Evaluation. In R. J. WASHBAU & M. J. DAY, **Canine & feline gastroenterology**, p. 863-875, 2013.
- MADDISON, J. Hepatoencephalopathy. In: WASHBAU, R. J.; DAY, M. J. (Eds.) **Canine and Feline Gastroenterology**. 1. ed. St. Louis: Elsevier Saunders, p. 135–139, 2013.
- MANKIN, K. M. T. Current concepts in congenital portosystemic shunts. **Vet. Clin. Small. Anim.**, v. 45, p. 477-487, 2015.
- MARKS, S. L. Nutritional Management of Hepatobiliary Diseases. In: FASCETTI, S.J.; DELANEY, A. (Ed.). **Applied Veterinary Clinical Nutrition**. 1. ed. Chichester, UK: Wiley-Blackwell, p. 235–250, 2012.
- MARKS, S.L. Nutritional management of hepatobiliary disease. In: Fascetti AJ, Delaney SJ. eds. **Veterinary Clinical Nutrition**. 1st ed. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc; pp. 235–250, 2011.

MEYER, H. P. et al. Hepatobiliary disease. In: HAND, M. S. et al. (Eds.). **Small Animal Clinical Nutritional**. 5. ed. Topeka, Kansas: Mark Morris Institute, 2010. p. 1155–1192.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient requirements of dogs and cats. Washington, DC: National Academy Press, 2006.

NICKEL, R. SCHUMMER, A.; SEIFERLE, E. **The viscera of the domestic mammal**. 2ed. Berlin: Verlag Paul Parey, 1979.

ODEH, M. Pathogenesis of hepatic encephalopathy: the tumour necrosis factor-alpha theory. **Eur J Clin Invest**, v.37, p. 291-304, 2007

OR, M.; DEVRIENDT, N.; KITSHOFF, A. M.; PEREMANS, K.; VANDERMEULEN, E.; PAEPE, D.; POLIS, I.; MARTLÉ, V.; DE ROOSTER, H. Ammonia concentrations in arterial blood, venous blood, and cerebrospinal fluid of dogs with and without congenital extrahepatic portosystemic shunts. **American Journal of Veterinary Research**. v. 78, n. 11, p. 1313-1318, 2017.

portosystemic shunts: 42 cases (1991–1996). **J Am Vet Med Assoc**, v.214, n. 2, p. 218-220, 1999.

PRAKASH, R.; MULLEN, K.D. Mechanisms, diagnosis and management of hepatic encephalopathy. **Nat Rev Gastroenterol Hepatol**, v.7, n. 9, p. 515-525, 2010.

PRATSCHKE, K. Canine portosystemic shunts: an overview of diagnosis and treatment options. **Veterinary Focus**, Bolonha, ITA, v. 20, n. 3, p. 9-15, 2010.

PRATSCHKE, K. Canine portosystemic shunts: an overview of diagnosis and treatment option. **Veterinary Focus**. v. 20, n. 3, p. 9-15, 2010.

PROOT, S., V. BIOURGE, E. TESKE, J. ROTHUIZEN. Soy protein isolate versus meat-based low-protein diet for dogs with congenital portosystemic shunts. *Journal of Veterinary Internal Medicine* v.23: p.794-800, 2009

PROSKY, L.; ASP, N.G.; ACHWEIZER, T.F.; DEVRIES, J.W.; FURDA, I. Determination of insoluble and soluble dietary fiber in foods and food products: collaborative study. *J. AOAC. Int.*, v.75, p.360-7, 1992.

RODRIGO, R.; CAULI, O.; GOMEZ-PINEDO, U.; AGUSTI, A.; HERNANDEZ-RABAZA, V.; GARCÍA-VERDUGO, J. M.; FELIPO, V. Hiperammonemia induces neuroinflammation that contributes to cognitive impairment in rats with hepatic encephalopathy. **Gastroenterology**, v. 139, n. 2, p. 675-684, 2010.

ROGERO, M.M., TIRAPEGUI, J. Aspectos atuais sobre aminoácidos de cadeia ramificada e exercício físico. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, vol. 44, n. 4, out./dez., 2008.

ROMERO-GOMEZ, M.; RAMOS-GUERRERO, R.; GRANDE, L.; DE TERAN, L. C.; CORPAS, R., CAMACHO, I., BAUTISTA, J.D. Intestinal glutaminase activity is increased in liver cirrhosis and correlates with minimal hepatic encephalopathy. **J Hepatol**, v. 41, p. 49-54, 2004.

Roskams T, Desmet VJ, Verslype C (2007) Desenvolvimento, estrutura e função do fígado. Em: Burt AD, Portman BC, Ferrell LD, editores. *Patologia de MacSween do fígado*. PA: Churchill Livingstone Elsevier. 1–73.

SAKOMURA, N. et al. **Nutrição de Não Ruminantes**, Jaboticabal: Funep, 2014. 678 p.

SCHAEFFER, M. C.; ROGERS, Q. R.; BUFFINGTON, C. A.; WOLFE B. M.; STOMBECK, D. R. Long-term biochemical and physiologic effects of surgically placed portacaval shunts in dogs. **American Journal Veterinary Research**. v. 47, n. 2, p. 346-355, 1986

SEYAN, A. S.; HUGHES, R.D.; SHAWCROSS, D.L. Changing face of hepatic encephalopathy: role of inflammation and oxidative stress. **World J Gastroenterol**, v.16, p. 3347-57, 2010.

SHAWCROSS, D. L.; SHABBIR, S.S.; TAYLOR, N. J.; HUGHES, R. D. Ammonia and the neutrophil in the pathogenesis of hepatic encephalopathy in cirrhosis. **Hepatology**, v.51, n. 3, p.1062-1069, 2010.

SHIMOMURA, Y.; HARRIS, R.A. Metabolism and physiological function of branched-chain amino acids: discussion of session 1. **J. Nutr.**, v.136, n. p.232S-233S, 2006.

SHIMOMURA, Y.; YAMAMOTO, Y.; BAJOTTO, G.; SATO, J.; MURAKAMI, T.; SHIMOMURA, N.; KOBAYASHI, H.; MAWATARI, K. Nutraceutical effects of branched-chain amino acids on skeletal muscle. **J. Nutr.**, v.136, n.2, p.529S-532S, 2006.

SILVA, V.C. et al. Ultrassonografia doppler e angiografia tomográfica computadorizada no diagnóstico de desvios porto-sistêmicos – revisão de literatura. **Clínica Veterinária**, São Paulo, n. 78, p. 70-78, 2009.

SIMPSON, K. W.; MEYER, D. J.; BOSWOOD, A. et al. Iron status and erythrocyte volume in dogs with congenital portosystemic vascular anomalies. **J. Vet Intern. Med.**, v. 11, p. 14-19, 1997.

SIMPSON, K. W.; MEYER, D. J.; BOSWOOD, A.; WHITE, R. N.; MASKELL, I. E. Iron status and erythrocyte volume in dogs with congenital portosystemic vascular anomalies. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. v. 11, n. 1, p. 14-19, 1997.

SOETER, P. B.; FISCHER, J. E. Insulin, glucagon, aminoacid imbalance, and hepatic encephalopathy. **The Lancet**, v. 308, p. 880-882, 1976.

STRAIT, K. R.; LATIMER, K. S.; TARPLEY, H. L. An Overview of Eritrocythosis in Dogs and Cats. In: *Veterinary Clinical Pathology*, Athens, v. 8, n. 1, p. 1- 9, July 2005.

STRATEN, G.V.; SPEE, B.; ROTHUIZEN, J.; STRATEN, M.V.; FAVIER, R.P. Diagnostic value of the rectal ammonia tolerance test, fasting plasma ammonia and fasting plasma bile acids for canine portosystemic shuntig. **The Veterinary Journal**, v. 204, p. 282-286, 2015.

STROMBECK, D.R.; HARROLD, D.; ROGERS, Q.; WHEELDON, E.; STERN, J.; SCHAEFFER, M. Plasma aminoacid, glucagon, and insulin concentration in dogs with nitrosamine induced hepatic disease. **Am J Vet Res**, v. 44, n. 11, p. 2028-20136, 1983.

SUZUKI, K.; SUZUKI, K.; KOIZUMI, K.; ICHIMURA, H.; OKA, S.; TAKADA, H.; KUWAYAMA, H. Mensurement of sérum branched-chain amino acids to tyrosine

ratio leva lis useful in a prediction of a change of sérum albumin level in chronic liver disease. **Hepatology Research**. v. 38, n. 3, p 267-272, 2008.

SZATMÁRI, V.; SLUIJS, F. J.; ROTHUIZEN, J.; VOORHOUT, G. Ultrasonographic assessment of hemodynamic changes in the portal vein during surgical attenuation of congenital extrahepatic portosystemic shunts in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.224, n.3, p.395-402, 2004.

TABOADA, J.; DIMSKI, D.S. Hepatic encephalopathy: clinical signs, pathogenesis, and treatment. **Vet Clin NorthAmSmall Anim Pract**, v. 25, n. 2, p. 337-355, 1995.

TIVERS, M.S.; HANDEL, I.; GOW, A.G. et al. Hyperammonemia and systemic inflammatory response syndrome predicts presence of hepatic encephalopathy in dogs with congenital portosystemic shunts. **PloS One**, v.9, n. 1, 2014.

TOBIAS, K.M.; ROHRBACH, B.W. Association of breed with the diagnosis of congenital portosystemic shunts in dogs: 2,400 cases (1980-2002). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 11, p. 1636-1639, 2003.

VALE, S. R.; GLORIA, M. B. Determination of biogenic amines in cheese. *Journal of AOAC International*, v. 80, p. 1006-1012, 1997.

VAN DEN BOSSCHE, L.; VAN STEENBEEK, F. G. Canine congenital portosystemic shunts: Disconnections dissected. **The Veterinary Journal**. v. 211, p. 14-20, 2016.

VAN DEN INGH; ROTHUIZEN, J.; MEYER, H.P. Circulatory disorders of the liver in dogs and cats. **Veterinary Quarterly**, v.17, n. 2 p. 70-76, 1995.

VAQUERO, J.; BUTTERWORTH, R. F. Mechanisms of brain edema in acute liver failure and impact of novel therapeutics interventions. **Neurol Res**, v. 29, n. 7, p. 683-690, 2007.

WATSON, A. D. J. Erythrocytosis and Polycythemia In: FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. **Schalm's Veterinary Hematology**. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, chap. 38, p.216-221, 2000.

WATSON, P. J. Hepatobiliary Diseases in the Dog In: **Small Animal Internal Medicine**, 5th Edition. Nelson R. W.; Couto C. G.; Elsevier Mosby, St.Louis. pp. 559-87, 2014.

WATSON, P. J.; BUNCH, S. E. Distúrbios hepatobiliares e do pâncreas exócrino. In: NELSON, R.W.; COUTO, C. G. **Medicina interna de pequenos animais**. 4. Ed. Rio de Janeiro: Elsevier, Parte 4, p. 485-578, 2010.

WATSON, P. J.; HERRTAGE, M. E. Medical management of congenital portosystemic shunts in 27 dogs – a retrospective study. **Journal of Small Animal Practice**. v. 39, p. 62-68, 1998.

WEBER, F.L. JR.; MINCO, D.; FRESARD, K.M.; BANWELL, J.G. Effects of vegetable diets on nitrogen metabolism in cirrhotic subjects. **Gastroenterology**, v. 89 p. 538-544, 1985.

WEISSE, C.; BERENT, A. C.; TODD, K.; SOLOMON, J. A.; COPE, C. Endovascular evaluation and treatment of intrahepatic portosystemic shunts in dogs: 100 cases (2001-2011). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 244, p. 78-94, 2014.

WRIGHT, G.; NOIRET, L.; OLDE DAMINK, S.W.; JALAN, R. Interorgan ammonia metabolism in liver failure: the basis of current and future therapies. **Liver Int**, v.31, n. 2, p. 163-175, 2011.

YEGAMBARAM, K.; BULLOCH, E. M.; KINGSTON, R. L. Protein domain definition should allow for conditional disorder. **Protein Science**. v. 22, n. 11, p. 1502-1518, 2013.

ZAVARIZE, K. C.; MENTEN, J. F. M.; TRALDI, A. B.; SANTAROSA, J.; SILVA, C. L. S. Administration of glutamine in the nutrition of monogastric animals. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**. v. 105, p. 573-576, 2010.