

VINICIUS VASQUES DE OLIVEIRA

**Perfil do alimento e variáveis nutricionais e intestinais de cães com
insuficiência pancreática exócrina**

São Paulo

2022

VINICIUS VASQUES DE OLIVEIRA

**Perfil do alimento e variáveis nutricionais e intestinais de cães com
insuficiência pancreática exócrina**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Departamento:
Clínica Médica

Área de concentração:
Clínica Veterinária

Orientador:
Prof. Dr. Marcio Antonio Brunetto

São Paulo
2022

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

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

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

T. 4181
FMVZ

Oliveira, Vinicius Vasques de
Perfil do alimento e variáveis nutricionais e intestinais de cães com insuficiência pancreática exócrina / Vinicius Vasques de Oliveira. – 2022.
67 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Clínica Médica, São Paulo, 2022.

Programa de Pós-Graduação: Clínica Veterinária.

Área de concentração: Clínica Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Marcio Antonio Brunetto.

1. Pâncreas exócrino. 2. Caninos. 3. Permeabilidade intestinal. 4. Cobalamina. 5. Digestibilidade. I. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela bibliotecária Camila Molgara Gamba, CRB-8 7070, da FMVZ/USP.

**CERTIFICADO**

Certificamos que a proposta intitulada "PERFIL DO ALIMENTO E VARIÁVEIS NUTRICIONAIS E INTESTINAIS DE CÃES COM INSUFICIÊNCIA PANCREÁTICA EXÓCRINA", protocolada sob o CEUA nº 5737040320 (ID 007638), sob a responsabilidade de **Márcio Antônio Brunetto e equipe; Vinícius Vasques de Oliveira** - 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 18/03/2020.

We certify that the proposal "FOOD PROFILE, NUTRITIONAL AND INTESTINAL VARIABLES OF DOGS WITH EXOCRINE PANCREATIC INSUFFICIENCY", utilizing 20 Dogs (males and females), protocol number CEUA 5737040320 (ID 007638), under the responsibility of **Márcio Antônio Brunetto and team; Vinícius Vasques de Oliveira** - 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 03/18/2020.

Finalidade da Proposta: [Pesquisa](#)

Vigência da Proposta: de 06/2020 a 06/2021

Área: [Nutrição E Produção Animal](#)

Origem: [HOVET/FMVZ/USP](#)

Espécie: [Cães](#)

sexo: [Machos e Fêmeas](#)

idade: [1 a 20 anos](#)

N: [20](#)

Linhagem: [Inespecífico](#)

Peso: [1 a 50 kg](#)

Local do experimento: HOVET USP

São Paulo, 26 de março de 2020

Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna

Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

Camilla Mota Mendes

Vice-Coordenador

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: DE OLIVEIRA, Vinicius Vasques

Título: **Perfil do alimento e variáveis nutricionais e intestinais de cães com insuficiência pancreática exócrina**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

Dedico aos meus queridos, compreensivos, parceiros, amigos e amados pais, Leni e José.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos Deuses e todas as forças do Universo por me guiarem até aqui da melhor forma possível, mesmo em meio as dificuldades.

Aos meus pais Leni e José, por sempre apoiarem qualquer decisão, servindo de base para que eu alcance todos os meus sonhos. Aos meus irmãos Nicholas e Leonardo que sei que independente de qualquer coisa, estarão ao meu lado sempre que eu precisar. À minha avó Maria, que nunca mediu esforços para minha formação acadêmica e, a todos os integrantes da minha família. Eu amo vocês.

Ao meu companheiro, melhor amigo e noivo Bruno Duarte, que nunca soltou minha mão mesmo nos piores momentos, sendo o abraço seguro nos momentos mais difíceis da minha vida, agradeço a paciência esses anos. Um abraço especial ao Eli (*in memoriam*), com sua pergunta clássica: “Como vai o mestrado?” - Olha Eli, eu terminei!!!!

Ao meu orientador Prof. Dr. Marcio Brunetto, que abriu uma porta em 2017 para um imenso mundo de possibilidades, obrigado pela confiança, paciência e amizade durante todos esses anos. E principalmente, pelos ensinamentos e orientação.

Ao meu amigo Fabio Alves Teixeira, que acreditou em mim em momentos que nem eu mesmo acreditei, obrigado pelos conselhos, ensinamentos e conversas em momentos compartilhados no HOVET das 8h00 às 23h00.

Obrigado Bruna Ruberti, Mariana Porsani, Vivian Pedrinelli, Andressa Amaral, Caio Duarte, Diego Garcia, Larissa Risolia, Mariana Rentas, Michele Carregallo, Rodrigo Olivindo, por deixarem meus dias muito mais leves e felizes. Agradeço em especial ao Lucas Henriquez, pela amizade e pela grande ajuda no processamento de amostras durante todo o projeto. Minha eterna gratidão. Agradeço aos meus queridos ICs, Barbara Codeas e Rafael Oliveira por toda ajuda nas coletas durante o projeto. A todos os funcionários do HOVET/FMVZ-USP. Agradeço a PremieRpet[®] pelo financiamento do estudo. Aos tutores e todos os cães que participaram e tornaram este estudo possível.

Agradeço imensamente ao Departamento de Capacitação Técnico-Científica da PremieRpet[®] em especial a Ariane Galdino, Julia Silveira, Andressa Capelasso, Flavio Silva e Marina Macruz por todo suporte durante o término do mestrado em conjunto com as demandas do departamento, muito obrigado.

Um agradecimento especial ao Renan Cupertino, que chegou para acrescentar na época mais corrida da minha vida e, com toda paciência, prestou todo suporte em momentos de tensão.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. Agradecimento pela bolsa auxílio.

*"Todo dia o Sol brilha com todo o fulgor. Mesmo após um dia nublado.
E por isso, eu também serei como o Sol."*

Schmidt, R.

RESUMO

OLIVEIRA, V.V. **Perfil do alimento e variáveis nutricionais e intestinais de cães com insuficiência pancreática exócrina**. 2022. 67f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022.

A insuficiência pancreática exócrina (IPE) é um distúrbio gastrointestinal decorrente de baixa secreção de enzimas digestivas pelo pâncreas exócrino. As principais manifestações clínicas da IPE são: perda de peso, polifagia, aumento de volume fecal, diarreia, esteatorreia e coprofagia. Cães com IPE tendem a desenvolver deficiência de cobalamina, pois sua absorção está correlacionada com o funcionamento correto do pâncreas exócrino. O tratamento da IPE é baseado na terapia de reposição enzimática no momento das refeições, emprego de alimento de alta digestibilidade e possível suplementação de vitaminas. Este estudo teve como objetivos principais investigar a possibilidade de correção das deficiências nutricionais nos animais com IPE (cobalamina) manejados com alimento de alta digestibilidade e maior concentração de nutrientes, avaliar a digestibilidade e permeabilidade intestinal dos animais com essa afecção, além de determinar o índice de disbiose. Dez cães com IPE foram selecionados na rotina do Hospital Veterinário da FMVZ/USP. Para o grupo controle foram selecionados dez cães saudáveis. Os animais passaram por dois períodos experimentais, constituídos de 60 dias cada, onde receberam dois diferentes alimentos: controle (para cães adultos em manutenção) e teste (alimento de alta digestibilidade com maior concentração de cobalamina). Os dados obtidos foram analisados no software computacional *Statistical Analysis System* (SAS, versão 9.4). A normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias foram verificadas pelo teste de Shapiro-Wilk e Levine, respectivamente. Para a comparação entre os grupos e o efeito dos dois alimentos empregados no estudo foi realizado teste de ANOVA com medidas repetidas no tempo. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. O fornecimento do alimento de alta digestibilidade, formulado com 1.500mcg/kg de cobalamina, durante 60 dias, foi eficaz em aumentar as concentrações séricas de cobalamina nos cães com IPE e nos cães saudáveis ($p < 0,0001$). Os cães com IPE, mesmo sem manifestações clínicas, apresentaram menores coeficientes de digestibilidade aparente da gordura ($p = 0,0018$), proteína ($p = 0,0038$) e carboidratos ($p = 0,0104$) e apresentaram aumento da permeabilidade intestinal ($p = 0,0448$) quando comparados com os cães saudáveis. Além disso, foi

possível identificar que a microbiota intestinal de cães com IPE, mesmo em terapia de reposição enzimática, é diferente da microbiota de cães saudáveis recebendo a mesma dieta ($p=0,0287$). Os dados encontrados neste estudo embasam que a suplementação de cobalamina pela via oral é uma alternativa para cães que necessitem de suplementação e, apontam a importância de fornecer um alimento de alta digestibilidade para cães com IPE, mesmo sob terapia de reposição enzimática e sem manifestações clínicas da doença. Além disso, confirma que os cães com IPE, mesmo estabilizados, apresentam alteração da permeabilidade e microbiota intestinal quando comparados a cães saudáveis.

Palavras-chave: Pâncreas exócrino. Caninos. Cobalamina. Digestibilidade. Microbiota.

ABSTRACT

OLIVEIRA, V.V. **Diet profile, nutritional and intestinal variables of dogs with exocrine pancreatic insufficiency.** 2022. 67f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022.

Exocrine pancreatic insufficiency (EPI) is a gastrointestinal disorder resulting from the low secretion of digestive enzymes by the exocrine pancreas. The main clinical manifestations of EPI are weight loss, polyphagia, increased fecal volume, diarrhea, steatorrhea, and coprophagia. Dogs with EPI tend to develop cobalamin deficiency, as its absorption is correlated with the correct functioning of the exocrine pancreas. The treatment of EPI is based on enzyme replacement therapy at mealtimes, the use of highly digestible food, and possible vitamin supplementation. The main objectives of this study were to investigate the possibility of correcting nutritional deficiencies in animals with EPI (cobalamin) managed with highly digestible food and higher concentration of nutrients, and to evaluate the digestibility and intestinal permeability of animals with this condition, in addition to determining the dysbiosis index. Ten dogs with EPI were selected in the routine of the Veterinary Hospital of FMVZ/USP. For the control group, ten healthy dogs were selected. The animals underwent two experimental periods consisting of 60 days each where they received two different foods: control (for adult dogs in maintenance) and test (high digestibility food with a higher concentration of cobalamin). The data obtained were analyzed using the Statistical Analysis System software (SAS, version 9.4). Residual normality and variance homogeneity were verified by the Shapiro-Wilk and Levine tests, respectively. To compare the groups and the effect of the two foods used in the study, an ANOVA test with repeated measures over time was performed. The supply of highly digestible food, formulated with 1.500mcg/kg of cobalamin, for 60 days was effective in increasing the serum concentrations of cobalamin in dogs with EPI and in healthy dogs ($p < 0.0001$). Dogs with EPI, even without clinical manifestations, had lower digestibility coefficients of fat ($p = 0.0018$), protein ($p = 0.0038$), and carbohydrates ($p = 0.0104$) and presented increased intestinal permeability ($p = 0.0448$) when compared to healthy dogs. In addition, it was possible to identify that the intestinal microbiota of dogs with EPI, even on enzyme replacement therapy, is different from the microbiota of healthy dogs receiving the same diet ($p = 0.0287$). The data found in this study support that oral cobalamin supplementation is an alternative for dogs that need supplementation and

point to the importance of providing a highly digestible food for dogs with EPI, even under enzyme replacement therapy and without clinical manifestations of the disease. In addition, it confirms that dogs with EPI even stabilized, have altered permeability and intestinal microbiota when compared to healthy dogs.

Keywords: Exocrine pancreas. Canines. Cobalamin. Digestibility. Microbiota.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática do modo de absorção da cobalamina em carnívoros.....	20
Figura 2 – Administração de iohexol por meio de seringa e sonda.....	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição química (em matéria seca) dos alimentos empregados no estudo	32
Tabela 2 - Composição dos produtos enzimáticos usados no estudo	34
Tabela 3 - Características individuais dos animais do grupo IPE (n=10) incluídos no estudo.....	38
Tabela 4 - Características individuais dos animais do grupo controle (n=10) incluídos no estudo.....	39
Tabela 5 - Coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes (%) dos cães saudáveis (Controle) e com insuficiência pancreática exócrina (IPE) após a ingestão do alimento de manutenção.....	40
Tabela 6 - Coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes (%) dos cães saudáveis (Controle) e com insuficiência pancreática exócrina (IPE) após a ingestão do alimento gastrointestinal.....	40
Tabela 7 - Coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes (%) dos cães com insuficiência pancreática exócrina sob ingestão dos alimentos de manutenção e gastrointestinal.....	40
Tabela 8 – Permeabilidade intestinal dos cães saudáveis (controle) e com insuficiência pancreática exócrina (IPE) após ingestão dos dois alimentos experimentais.....	41
Tabela 9 – Concentrações séricas de cobalamina e folato de cães saudáveis e cães com insuficiência pancreática exócrina após a ingestão dos alimentos experimentais.....	41
Tabela 10 – Índice de disbiose (ID) determinado nas fezes dos cães saudáveis e com insuficiência pancreática exócrina após a ingestão dos dois alimentos experimentais.....	42

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Enriquecimento por quilograma de produto dos alimentos empregados no estudo.....	33
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS

ALT	Alanina aminotransferase
cTLI	<i>Canine trypsin-like immunoreactivity</i>
ECC	Escore de condição corporal
EMM	Escore de massa muscular
EEHA	Extrato etéreo em hidrólise ácida
FA	Fosfatase alcalina
FB	Fibra bruta
FI	Fator intrínseco
IPE	Insuficiência pancreática exócrina
MS	Matéria seca
MM	Matéria mineral
PB	Proteína bruta

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	21
3	HIPÓTESE	31
4	OBJETIVOS	32
5	MATERIAL E MÉTODOS.....	33
6	RESULTADOS.....	40
7	DISCUSSÃO	45
8	CONCLUSÕES	53
	REFERÊNCIAS.....	54
	ANEXOS	65

1 INTRODUÇÃO

O pâncreas é um órgão composto por dois tipos distintos de tecido glandular. A menor porção é organizada em ilhotas que secretam os hormônios pancreáticos para a corrente sanguínea, a junção das ilhotas pancreáticas é comumente denominado pâncreas endócrino. A maior porção do órgão está associada com a produção e fluxo de secreções digestivas, essa fração do tecido pancreático é denominada de pâncreas exócrino (WATSON; BUNCH, 2010).

A porção exócrina do pâncreas é responsável por sintetizar e secretar enzimas e substâncias que permitem a digestão e adequada absorção dos nutrientes. As enzimas pancreáticas atuam na digestão das proteínas, carboidratos e gorduras, transformando-os em componentes menores e absorvíveis (WESTERMARCK; WIBERG, 2003). O pâncreas exócrino mantém o pH intestinal dentro de intervalo de valores considerados ideais por meio da secreção de bicarbonato, também libera o fator intrínseco, que permite a absorção de vitamina B12 (cobalamina) e, secreta substâncias bacteriostáticas que impedem a proliferação bacteriana no intestino delgado (VILLAVERDE, 2012).

Em cães, a causa mais comum da IPE é devido a uma doença autoimune conhecida como atrofia acinar pancreática, cuja patogenia não está totalmente esclarecida (CLARK; COX, 2012a). Sabe-se que os cães da raça Pastor Alemão são os mais acometidos pela atrofia acinar pancreática e conseqüentemente pela IPE, porém, não se trata de uma doença congênita (WESTERMARCK; SAARI; WIBERG, 2010). Em casos mais raros, a IPE pode ser ocasionada por um estágio avançado de pancreatite crônica (WATSON; BUNCH, 2010).

O diagnóstico da IPE é baseado nas manifestações clássicas da doença: perda de peso, polifagia, aumento no volume fecal, esteatorreia, diarreia, associado aos testes da função pancreática exócrina. A mensuração sérica de amilase e lipase não são úteis no diagnóstico da IPE. A dosagem da enzima *canine trypsin-like immunoreactivity* (cTLI) é o teste de função pancreática mais fidedigno para o diagnóstico desta afecção, onde valores abaixo de 2,5µg/L confirmam o diagnóstico da doença (WESTERMARCK; WIBERG, 2012a). As dosagens de TLI são espécie-específicas. A associação das manifestações clínicas com baixas concentrações séricas de cTLI determinam o diagnóstico da IPE (WESTERMARCK; WIBERG, 2003).

A suplementação exógena das enzimas digestivas pancreáticas é essencial para o tratamento da IPE (WIBERG, 2004). Portanto, dosagens específicas da quantidade inicial necessária para cessar as manifestações clínicas são empíricas. A recomendação mais usada é a da utilização de “uma” colher de chá de extrato pancreático em pó para cada 10kg de peso corporal por refeição (WILLIAMS, 2000).

Em relação a dieta, erroneamente ainda é observado na prática clínica a recomendação de restrição de gordura após o diagnóstico da IPE, porém, estudos mostraram que as respostas para diferentes tipos de dietas variam entre os animais. Sugere-se que a alimentação seja melhor avaliada e formulada de forma individual para os cães com IPE (WESTERMARCK; WIBERG, 2006). Dietas de moderada a alta gordura são encorajadas em pacientes com ECC abaixo do ideal. A restrição de gordura não é necessária a menos que a esteatorreia seja incontrollável (PIDGEON, 1982; BATCHELOR et al., 2007a; VILLAVERDE, 2012). Em casos mais complexos, preconiza-se a prescrição de um alimento de alta digestibilidade (WESTERMARCK; WIBERG, 2006; VILLAVERDE, 2012). Todavia, são escassos os estudos que abordaram o manejo nutricional de cães com insuficiência pancreática exócrina.

As vitaminas lipossolúveis são dependentes da digestão adequada da gordura para serem absorvidas. Devido ao mal funcionamento do pâncreas, os animais com IPE podem apresentar baixas concentrações séricas desses nutrientes (BARKO; WILLIAMS, 2018). Um estudo recente demonstrou que as concentrações séricas de retinol, 25-hidrocolecalciferol (25OHD) e α -tocoferol eram menores em cães com IPE, e que os cães que tinham perda de peso apresentaram a 25OHD em menor concentração do que cães com peso estável (BARKO; WILLIAMS, 2018).

O pâncreas é responsável também pela secreção do fator intrínseco, que é essencial para a absorção de vitamina B12 (cobalamina). Cães com IPE podem apresentar quadro de hipocobalaminemia devido à ausência do fator intrínseco (VILLAVERDE, 2012). Em estudo recente, Soetart et al. (2019) demonstraram que a hipocobalaminemia está associada de forma negativa ao prognóstico do cão, pois a cobalamina é essencial para a renovação celular, principalmente em sistemas biológicos com alta rotatividade celular, como os enterócitos. A cobalamina sérica é considerada um marcador importante para o acompanhamento do animal com IPE (BATCHELOR et al., 2007a; RUAUX, 2013a).

Além das enzimas digestivas, o pâncreas também secreta diversas substâncias bacteriostáticas que impedem o crescimento de microrganismos no intestino. Cães

com IPE, podem apresentar disbiose devido ao super crescimento bacteriano intestinal (WILLIAMS; BATT; MCLEAN, 1987). Como o folato é produzido por bactérias intestinais, maior concentração sérica desta vitamina pode ser observada em cães com IPE, devido à falta das substâncias não secretadas pelo pâncreas (VILLAVARDE, 2012). Em estudo recente foi observado que concentração elevada de folato sanguíneo pode ser fator prognóstico favorável em cães com IPE. Os autores hipotetizaram que os cães que apresentaram aumento nas concentrações séricas de folato, mantiveram integridade de enterócito e sua capacidade de absorção (SOETART et al., 2019a). Todavia, novos estudos são necessários para avaliar se a hiperfolatemia de fato está associada ao melhor prognóstico.

A disbiose bacteriana ocasionada pela IPE é multifatorial e, pode ser explicada pela maior disponibilidade de alimento não digerido no intestino delgado, pela falta dos fatores antibacterianos citados anteriormente, como também, por alteração em motilidade e defesas imunológicas gastrointestinais (WESTERMARCK; MYLLYS; AHO, 1993). No entanto, apenas dois estudos avaliaram a microbiota fecal de cães com IPE e esta foi comparada com a de cães saudáveis (ISAIHAH et al., 2017a; BLAKE et al., 2019). Em um deles, os autores demonstraram que os cães com IPE (tratados e não tratados) possuem microbiota diferente da observada em cães saudáveis (ISAIHAH et al., 2017).

São escassos os dados em literatura a respeito de diferentes aspectos relacionados ao processo digestivo e manejo nutricional de cães acometidos por IPE.

2 REVISÃO DE LITERATURA

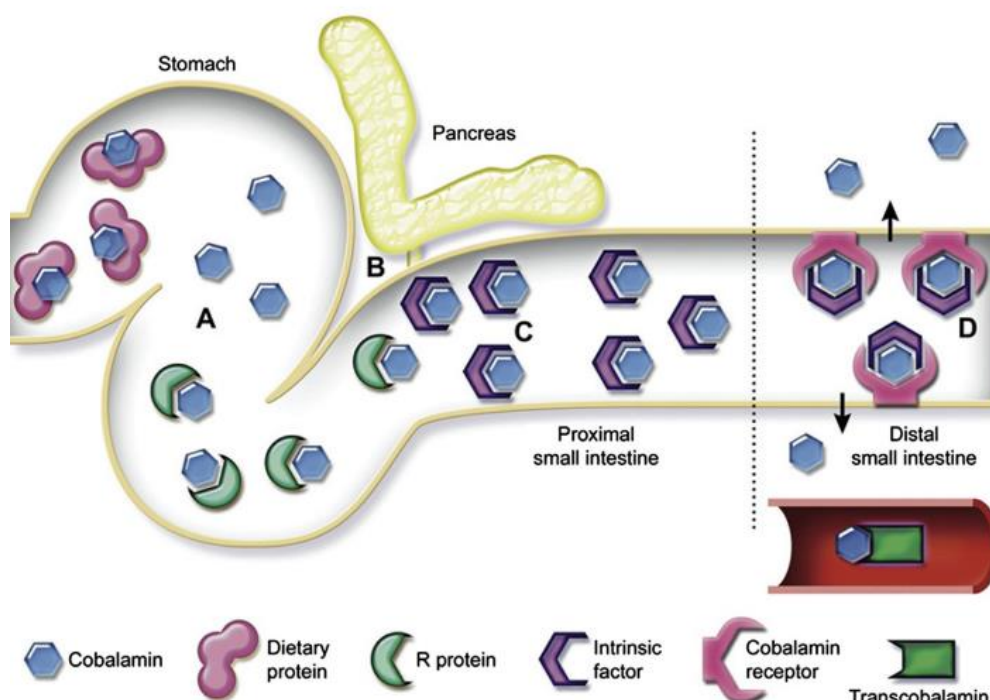
2.1 Função pancreática exócrina

O pâncreas é classificado como uma glândula anfícrica, ou seja, atua simultaneamente como glândula endócrina e exócrina (WATSON; BUNCH, 2010; VILLAVARDE, 2012; SOETART et al., 2019b). A digestão adequada dos macronutrientes advindos da dieta é um pré-requisito para a melhor absorção e, esta ocorre principalmente pela hidrólise enzimática. Neste contexto, a função exócrina do pâncreas tem papel fundamental, pois é por meio das enzimas pancreáticas que ocorre a digestão dos macronutrientes. As enzimas lipase, amilase, tripsina e quimiotripsina desempenham as ações mais importantes para a adequada digestão das gorduras, amido e proteínas (LAYER; KELLER, 1999; KELLER, 2005).

Além das enzimas digestivas, o suco pancreático é formado por outros componentes que são fundamentais para manter o ambiente intestinal favorável para ação das enzimas pancreáticas (KELLER, 2005; VILLAVARDE, 2012; DIÉGUEZ-CASTILLO et al., 2020). O pH intestinal ideal é mantido por meio da secreção pancreática de bicarbonato, além disso, o pâncreas exócrino produz substâncias com potencial bacteriostático, o que impede a proliferação bacteriana no intestino delgado e modula a microbiota intestinal (WATSON; BUNCH, 2010; PIETZNER et al., 2021; SCHEPIS et al., 2021). Em cães e gatos, a função pancreática exócrina é fundamental para correta absorção de cobalamina por meio da síntese de uma glicoproteína carreadora, denominada fator intrínseco (FI), que auxilia no processo absorptivo desse nutriente (RUAUX, 2013a).

A síntese do FI pode variar de acordo com a espécie. Em cães, o pâncreas é a fonte majoritária de síntese e secreção dessa molécula, mas também ocorre produção de menor quantidade no estômago (BATT; MORGAN, 1982; BATT et al., 1989). Já em felinos, a produção do FI é realizada exclusivamente pelo pâncreas exócrino (FYFE, 1993; RUAUX, 2013a). A absorção de cobalamina é dependente da adequada síntese do fator intrínseco, por meio de um sistema de ligação de cobalamina, FI e receptores localizados na região distal do intestino delgado (Figura 1).

Figura 1 – Representação esquemática do modo de absorção da cobalamina em carnívoros.



Fonte: Suchodolski; Steiner (2003)

Logo, para a adequada absorção de cobalamina em cães, é necessário o funcionamento correto da função pancreática exócrina (produção de FI) e integridade da mucosa da região distal do intestino delgado, por se tratar da região onde os receptores do FI se encontram (FYFE, 1993; SUCHODOLSKI; STEINER, 2003; RUAUX, 2013a).

2.2 Insuficiência pancreática exócrina

Doenças crônicas que afetam o pâncreas exócrino ocasionam a baixa produção ou ausência da secreção pancreática. Devido a incapacidade do pâncreas exócrino de secretar as principais enzimas digestivas, os sinais de má digestão são típicos da IPE (WESTERMARCK; WIBERG, 2003, 2012a; GERMAN, 2012a). O pâncreas exócrino apresenta grande capacidade de reserva secretória, as manifestações clínicas de má digestão vão surgir quando o órgão já perdeu mais da metade da sua função, ou seja, no momento do diagnóstico os cães já apresentam

perda de mais de 90% do tecido pancreático exócrino (LAYER; KELLER, 1999; WIBERG; WESTERMARCK, 2002b; DIÉGUEZ-CASTILLO et al., 2020).

Em cães, a IPE ocorre geralmente como consequência de uma doença autoimune conhecida como atrofia acinar pancreática e, algumas raças são mais predispostas, como é o caso dos Pastores Alemães. Porém, não é considerada uma doença congênita (BATCHELOR et al., 2007b; WESTERMARCK; SAARI; WIBERG, 2010; CLARK; COX, 2012b; GERMAN, 2012a). A IPE pode ser ocasionada também por neoplasias pancreáticas (BRIGHT, 1985; SINGH et al., 2017) ou por estágio avançado da pancreatite crônica (WATSON, 2003; HUANG et al., 2019). Todavia, essas duas causas são mais raras em cães, sendo a atrofia acinar pancreática a mais comum.

A diminuição ou ausência da produção das enzimas pancreáticas, associada com a falta dos outros componentes presentes no suco pancreático, ocasionam as principais manifestações clínicas da IPE, que incluem: polifagia, perda de peso progressiva, diarreia crônica, esteatorreia, aumento do volume e quantidade das defecações e, possivelmente, presença de alimentos não digeridos nas fezes (WESTERMARCK; WIBERG, 2003; BATCHELOR et al., 2007b; GERMAN, 2012b). Devido a deficiência nutricional ocasionada pela má absorção de alguns nutrientes, há relatos de animais com IPE que apresentaram queda de pelo ou pelame opaco e sem brilho (XENOULIS et al., 2016).

O diagnóstico da IPE é baseado nas manifestações clínicas clássicas de má digestão e absorção e, por meio da dosagem da enzima *canine trypsin-like immunoreactivity* (cTLI) onde valores abaixo de 2,5µg/L confirmam o diagnóstico (GERMAN, 2012b; WESTERMARCK; WIBERG, 2012b). Porém, como a perda do tecido pancreático é gradativa e pode variar entre os indivíduos, vale ressaltar que caso um cão que apresente alguma manifestação clínica isolada, porém, com os valores de cTLI baixos, mas acima de 2,5µg/L, possivelmente encontra-se na fase subclínica da doença, devido ao fato dos ácinos pancreáticos apresentarem produção e secreção de enzimas digestivas em menor quantidade. Nesta fase, geralmente as concentrações de cTLI apresentam-se na faixa de 2,5µg/L - 5µg/L (WIBERG; NURMI; WESTERMARCK, 1999; WIBERG; SAARI; WESTERMARCK, 1999; WIBERG; WESTERMARCK, 2002a).

Devido a incapacidade do pâncreas exócrino de produzir e secretar o FI, a mensuração sérica de cobalamina é um marcador importante para cães com IPE,

principalmente no momento do diagnóstico, tendo em vista que as concentrações séricas alteradas de cobalamina foram relatadas em cães com diversos distúrbios gastrointestinais (GRÜTZNER et al., 2012; RUAUX, 2013b; KATHER et al., 2020). Em um estudo observacional, os autores buscaram encontrar fatores prognósticos para cães com IPE, tendo em vista fatores biológicos, terapêuticos e epidemiológicos. A hipocobalaminemia foi um fator de risco significativo para diminuição da sobrevivência de cães com IPE, resultados que destacaram a importância da mensuração de cobalamina no momento do diagnóstico desta afecção pancreática (SOETART et al., 2019a).

A mensuração sérica de folato também é um marcador importante no acompanhamento de doenças gastrointestinais, pois auxilia na elucidação do ambiente intestinal de cães acometidos por diversas comorbidades (STEINER, 2014). As bactérias intestinais são capazes de sintetizar o folato, logo, em situação de disbiose intestinal com elevação do número de bactérias da microbiota, o aumento das concentrações séricas de folato pode ser observado (HEILMANN; STEINER, 2018).

Em cães com IPE, a alta concentração de folato sérico pode estar associada com melhor prognóstico. Soetart et al. (2019) relataram que a elevação da concentração sérica de folato foi considerada fator prognóstico positivo para cães com esta afecção, pois a capacidade de absorção intestinal foi mantida, devido a integridade dos enterócitos, mesmo em meio a alterações intestinais.

A base do tratamento da IPE consiste na terapia de reposição de enzimas pancreáticas como forma de suprir a incapacidade de produção do pâncreas exócrino. Esta terapia consiste na administração de enzimas digestivas ativadas no intestino delgado durante o período prandial, para auxiliar na adequada digestão e absorção dos nutrientes (DOMINGUEZ-MUÑOZ, 2019; PERBTANI; FORSMARK, 2019).

Ao longo dos anos, diversas formas de suplementação das enzimas digestivas foram aplicadas e estudadas na medicina humana, sendo elas na forma de cápsulas, comprimidos, preparos em pó. Atualmente, a forma mais utilizada para o tratamento da IPE em humanos é por meio de cápsulas contendo microesferas resistentes com revestimento entérico (HALM et al., 1999; LÖHR et al., 2009; MÖSSNER; KEIM, 2010; PARAMBETH et al., 2018).

Em cães com IPE, até a década de 90, o uso de um preparado contendo pâncreas suíno cru triturado era recomendado. Westermarck (1987) comparou o uso

de preparos enzimáticos comerciais de vários tipos com a suplementação de pâncreas suíno cru e, os resultados apontaram que a oferta de pâncreas suíno foi mais satisfatória do que a dos preparos comerciais existentes na época.

Ainda hoje, a prescrição do pâncreas suíno cru como forma de suplementação de enzimas digestivas para cães com IPE é uma prática empregada, porém, esta não é mais recomendada em medicina veterinária tendo em vista os malefícios que a oferta de vísceras ou carnes cruas, de qualquer fonte, pode ocasionar para os cães, como por exemplo a possibilidade de contaminação por salmonela (FINLEY; RAID-SMITH; WEESE, 2006; FREEMAN et al., 2013; DAVIES; LAWES; WALES, 2019; YUKAWA et al., 2022).

A forma mais eficaz de reposição das enzimas digestivas para cães com IPE é por meio dos preparos em pó (WESTERMARCK, 1987). Informações acerca da necessidade de revestimento entérico em cães ainda são confusas e demandam mais estudos para a avaliação da real necessidade do revestimento entérico para uso nesses casos, pois alguns autores demonstraram eficácia ao empregarem esse tipo de enzimas (MAS et al., 2012). Todavia, uma pesquisa mais recente não observou benefícios (PARAMBETH et al., 2018).

Além da suplementação das enzimas digestivas, nos casos de hipocobalaminemia, é recomendada a suplementação desta vitamina hidrossolúvel (cobalamina), tendo em vista que cães com IPE associada a deficiência de cobalamina tendem a ter pior prognóstico da doença (SUCHODOLSKI; STEINER, 2003; BATCHELOR et al., 2007a; RUAUX, 2013a; SOETART et al., 2019b).

Em cães e gatos, a suplementação de cobalamina sempre foi realizada por via parenteral nos casos de enteropatias, pois acreditava-se que o intestino não estaria apto para realizar adequada absorção pela via enteral. Porém, novos estudos demonstraram que em diversas enteropatias, a suplementação oral de cobalamina é tão eficaz quanto a suplementação por via parenteral (TORESSON et al., 2016; 2018, 2019; KOOK; HERSBERGER, 2019).

A suplementação oral de cobalamina em cães com IPE foi avaliada apenas em um estudo: dezoito cães diagnosticados com IPE associada a hipocobalaminemia foram suplementados com 0,25 – 1mg/kg/dia por via oral. Após período médio de 41 dias, todos os cães passaram a apresentar concentrações séricas de cobalamina dentro do intervalo de referência para a espécie (TORESSON et al., 2021). Porém, não existem informações na literatura acerca da maior inclusão de cobalamina no

alimento como possível estratégia para normalizar as concentrações séricas desta vitamina.

Como parte do protocolo de tratamento da IPE, alguns autores indicaram a administração de antibióticos por via oral com o propósito de promover o controle da disbiose intestinal (HALL et al., 1991; BATT, 1993; GERMAN, 2012a; WESTERMARCK; WIBERG, 2012a). No entanto, existem controvérsias em relação a esta recomendação. Ritz et al. (2020) demonstraram que a disbiose resultante de IPE induzida em mini-pigs foi revertida apenas por meio da suplementação de enzimas. Esse dado evidencia que a terapia adjuvante com antibióticos, talvez se aplique em alguns casos extremos. Porém, novos estudos são necessários para avaliar o real efeito da antibioticoterapia na IPE.

Em um estudo recente com seres humanos, foi observada que a função pancreática exócrina está intimamente relacionada com a composição da microbiota intestinal e que a redução da função pancreática exócrina e, conseqüentemente a alteração no perfil dos microrganismos intestinais é capaz de alterar o metabolismo do hospedeiro, por meio da alteração na produção de diversos metabólitos, apontando a importância da microbiota para a homeostase metabólica (PIETZNER et al., 2021b).

Apenas dois estudos publicados até o momento objetivaram avaliar a microbiota fecal de cães com IPE e, os dados demonstraram que os animais (tratados e não tratados) apresentaram alteração da população de bactérias intestinais, com índice de disbiose aumentado quando comparados com cães saudáveis (ISAIAH et al., 2017a; BLAKE et al., 2019). Porém, os autores sugeriram que mais estudos são necessários para elucidar os efeitos clínicos relacionados às alterações da microbiota intestinal em cães com IPE.

Na rotina clínica, o diagnóstico da disbiose intestinal é difícil, a realização de cultura bacteriana nas fezes não é um método fidedigno para avaliação da disbiose, pois não é capaz de identificar a maior parte dos grupos bacterianos (SUCHODOLSKI, 2016). De forma indireta, a disbiose pode ser avaliada por meio da dosagem sérica de cobalamina e folato, porém é um teste de baixa sensibilidade que pode apontar resultados incorretos.

A análise da microbiota intestinal é baseada em sequenciamento genético, porém, são técnicas de alto custo e complexidade que hoje são utilizadas apenas para pesquisa. Porém, pesquisadores do laboratório de doenças gastrointestinais da *Texas A&M University*, EUA, desenvolveram um teste de disbiose que é feito por PCR e

avalia a expressão de alguns grupos bacterianos (*Faecalibacterium*, *Turicibacter*, *Escherichia coli*, *Streptococcus*, *Blautia*, *Fusobacterium* e *Clostridium hiranonise*), associado ao número das bactérias totais nas fezes e, por meio destas informações, estabelecem um “índice de disbiose”, ou seja, um único número baseado nessas mensurações. Índices <0 indicam microbiota intestinal normal e, valores iguais ou acima de 0 são considerados sugestivos de disbiose intestinal (ALSHAWAQFEH et al., 2017). Porém, é um teste realizado apenas nos EUA ainda, o que dificulta a realização rotineira.

2.3 Disbiose intestinal

A disbiose intestinal é definida como a alteração na composição da microbiota baseada no número de espécies bacterianas (SUCHODOLSKI, 2016). A disbiose em cães, pode ser caracterizada pelo aumento na abundância de bactérias anaeróbicas facultativas da família Enterobacteriaceae (VÁZQUEZ-BAEZA et al., 2016) e pela redução de *Faecalibacterium*, *Fusobacterium* e *Clostridium hiranonis* (PILLA; SUCHODOLSKI, 2021). Esse desequilíbrio pode estar associado a várias afecções como diarreia (GUARD et al., 2015), doença inflamatória intestinal (DUBOC et al., 2013), insuficiência pancreática exócrina (BLAKE et al., 2019), obesidade (KIELER et al., 2017), disfunções neurológicas (JEFFERY et al., 2017), entre outras. Porém, para cada alteração metabólica é necessário o conhecimento das famílias de bactérias que são moduladas pela doença, a fim de realizar um diagnóstico coerente e preciso. Sabe-se que cães com diarreia aguda apresentaram maiores populações do gênero *Clostridium* (53,8%) em comparação com cães saudáveis (16,0%) e, menores populações de *Bacteroidetes* (27,9%), *Faecalibacterium* (1,1%) e um gênero não identificado dentro da família Ruminococcaceae (0,2%). Já em cães saudáveis, os gêneros mais expressivos foram *Prevotella* spp. (25,1%), *Blautia* spp. (25,2%), *Faecalibacterium* spp. (5,4%), *Eubacterium* spp. (3,8%) e as famílias Ruminococcaceae (0,3%), Lachnospiraceae (6,7%), Clostridia (0,9%) e Coprobacillaceae (2,6%) (GUARD et al., 2015). Embora não esteja elucidado até o momento se a disbiose é uma causa ou efeito das doenças gastrintestinais, é possível que a inflamação possa causar disbiose e esta pode ser fator de risco para exacerbar a inflamação em um indivíduo geneticamente suscetível (SUCHODOLSKI, 2016).

2.4 Permeabilidade intestinal

A mucosa intestinal é revestida por inúmeras células epiteliais, essas células formam barreiras físicas e químicas para regular a homeostase entre o meio externo e interno, impedindo a entrada de microrganismos com potencial patogênico (ODENWALD; TURNER, 2013; OKUMURA; TAKEDA, 2017). Porém, para a correta absorção dos nutrientes e secreção de alguns componentes, é fundamental que a barreira intestinal seja seletivamente permeável (SHEN et al., 2011). O termo permeabilidade intestinal refere-se a capacidade funcional da barreira do intestino de controlar e proteger o organismo contra microrganismos e toxinas, sem reduzir a absorção dos nutrientes (BISCHOFF et al., 2014).

Os defeitos dessa barreira e conseqüentemente do aumento da permeabilidade intestinal, foram relatados em diversas doenças gastrointestinais e sistêmicas em seres humanos, como: doença inflamatória intestinal, diabetes, HIV, pancreatite aguda e autismo (AMMORI et al., 1999; SHARPSTONE et al., 1999; SUENAERT et al., 2002; BOSI et al., 2006; DE MAGISTRIS et al., 2010). Na doença inflamatória intestinal, estudos mostraram que possivelmente o aumento da permeabilidade intestinal é o fator etiológico para manifestação da doença (ANTONI et al., 2014; MICHIELAN; D'INCÀ, 2015). Hollander et al. (1986) investigaram a possibilidade da permeabilidade intestinal alterada ser a causa primária da doença inflamatória intestinal e incluíram três grupos para avaliação da permeabilidade intestinal: pacientes com doença estabelecida e manifestações clínicas, parentes saudáveis do grupo com doença inflamatória intestinal e voluntários saudáveis sem consanguinidade com o grupo doente. Os dados obtidos mostraram aumento na permeabilidade intestinal do grupo com doença inflamatória intestinal e de seus parentes (sem manifestações clínicas) quando comparado ao grupo controle, indicando que possivelmente trata-se de um defeito primário que desencadeia toda a cascata inflamatória da doença.

O aumento da permeabilidade intestinal foi relatado em humanos com insuficiência pancreática exócrina, independente da causa da doença (MACK et al., 1992a; VAN ELBURG et al., 1996). Existem algumas hipóteses quanto ao aumento da permeabilidade intestinal na IPE, uma delas é devido a diminuição do pH no intestino delgado devido à baixa secreção pancreática de bicarbonato que ocasiona possíveis danos histológicos na mucosa intestinal (COX, KENNETH; ISENBERG;

NEVIN; AMENT, 1982; VAN ELBURG et al., 1996). A segunda hipótese está relacionada com a desnutrição grave, frequentemente encontrada em pacientes com IPE, que compromete a capacidade funcional de permeabilidade seletiva da barreira intestinal (LUNN; NORTHROP-CLEWES; DOWNES, 1991; VAN ELBURG et al., 1996).

Os cães apresentam também alteração da barreira intestinal e consequentemente da permeabilidade seletiva intestinal. O aumento da permeabilidade intestinal foi relatado em cães com doença intestinal crônica e disbiose (RUTGERS et al., 1996), em cães com doença inflamatória intestinal (KOBAYASHI et al., 2007) e já foi relatado também em cães com lesão traumática aguda (STREETER et al., 2002).

Mesmo com evidências concretas da alteração na permeabilidade intestinal em diversas doenças em seres humanos e em cães, os impactos clínicos e possíveis intervenções para reconstrução da barreira intestinal ainda permanecem desconhecidos (ODENWALD; TURNER, 2013; CAMILLERI, 2019). Novos estudos são necessários para correlacionar a possibilidade de redução das manifestações clínicas da doença primária por meio da restauração da barreira intestinal.

2.5 Manejo nutricional na insuficiência pancreática exócrina canina

No passado, a principal recomendação em relação ao manejo dietético se referia a restrição de gordura (PIDGEON, 1982; BATT, 1993). Porém, em 1995, Westermarck e colaboradores não observaram melhora clínica ao avaliarem o emprego de um alimento com restrição de gordura. Outros estudos observaram que a maioria dos cães com IPE apresentaram boa tolerância em relação ao manejo com maiores teores de gordura, sem necessidade de restrição (BIOURGE; FONTAINE, 2004; WESTERMARCK; WIBERG, 2006).

Na medicina humana, o manejo nutricional com dieta de alta energia é recomendado, em associação com reposição enzimática, principalmente para crianças em fase de crescimento e para indivíduos com condição corporal abaixo do ideal (STALLINGS et al., 2008a; PONGPRASOBCHAI, 2013; BROWNELL; BASHAW; STALLINGS, 2019; SANKARARAMAN; SCHINDLER; SFERRA, 2019; DIÉGUEZ-CASTILLO et al., 2020). Em cães, altos teores de gordura dietética também foram bem tolerados em algumas situações (SUZUKI et al., 1999; BIOURGE; FONTAINE,

2004), logo, a restrição dietética de gordura em cães com IPE é desencorajada em primeira instância, salvo em casos de esteatorreia irreversível (VILLAVERDE, 2012).

Em humanos, uma das causas da IPE é a fibrose cística, uma doença crônica e progressiva que afeta a funcionalidade dos fluídos de vários órgãos, principalmente pulmão e pâncreas (ENDRES; KONSTAN, 2022; LEY; TURCK, 2022). A fibrose cística, e consequentemente a IPE, é comum em crianças (BROWNELL; BASHAW; STALLINGS, 2019; PATEL et al., 2022), bem como a atrofia acinar pancreática é comum em cães jovens (WIBERG; SAARI; WESTERMARCK, 1999; WESTERMARCK; SAARI; WIBERG, 2010). O manejo nutricional da fibrose cística tem relação clara com o prognóstico positivo da doença, pois além do balanço energético negativo ocasionado pela IPE, o gasto energético de indivíduos com fibrose cística é maior do que de indivíduos saudáveis (MATEL; MILLA, 2009). A intervenção nutricional associada a terapia de reposição enzimática em pacientes com fibrose cística e IPE são relatadas como a principal parte do tratamento, alimentos de alta densidade energética foram associados com ganho de peso em pacientes adultos e crescimento adequado em crianças acometidas pela IPE (STALLINGS et al., 2008b; MATEL; MILLA, 2009; BROWNELL; BASHAW; STALLINGS, 2019; SHAPE; SALA, 2022).

São escassos os dados na literatura acerca do melhor manejo nutricional para cães acometidos pela IPE e, alguns autores relataram que o manejo precisa ser recomendado de forma individual, por meio de alimentos que incluam ingredientes de alta digestibilidade devido a possibilidade do baixo aproveitamento dos macronutrientes da dieta em cães com IPE (WESTERMARCK; WIBERG, 2006; GERMAN, 2012b). Porém, nenhum estudo avaliou a digestibilidade de macronutrientes em cães com insuficiência pancreática exócrina até o presente momento.

3 HIPÓTESE

Devido às evidências de que cães com IPE necessitam de suplementação vitamínica e que a hipocobalaminemia está associada ao pior prognóstico desses animais, a hipótese do presente estudo é que um alimento que contém alta digestibilidade e maiores concentrações de cobalamina conseguirá suprir as necessidades desta vitamina em cães acometidos por IPE. Além disso, cães com IPE apresentam alteração da microbiota, aumento da permeabilidade intestinal e redução da digestibilidade dos macronutrientes da dieta.

4 OBJETIVOS

4.1 PRINCIPAL

Avaliar os efeitos de um alimento de alta digestibilidade, formulado com altas concentrações de cobalamina, em variáveis clínicas e nutricionais de cães acometidos por insuficiência pancreática exócrina.

4.2 ESPECÍFICOS

- Avaliar se cães com IPE apresentam redução da digestibilidade dos macronutrientes da dieta;
- Avaliar a permeabilidade intestinal de cães com IPE, comparando com a de cães saudáveis manejados com o mesmo alimento;
- Determinar o índice de disbiose em cães com IPE, antes e após o manejo alimentar com o alimento experimental.

5 MATERIAL E MÉTODOS

Este foi um estudo clínico, conduzido de acordo com os princípios éticos de experimentação animal e sob aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ/USP) protocolado sob o nº 5737040320 e, após autorização dos proprietários dos cães conforme o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O experimento foi composto por dois grupos: IPE e controle. O grupo IPE foi composto por 10 cães com diagnóstico de IPE, atendidos na rotina do Serviço de Clínica Médica e Nutrologia do Hospital Veterinário (HOVET) da FMVZ/USP. Os critérios de inclusão foram: cães, fêmeas ou machos, diagnosticados com IPE, com faixas etárias variadas, sem outras doenças concomitantes, com escore de condição corporal (ECC) entre 4 e 5, na escala de 9 pontos (LAFLAMME, 1997) e, que não tivessem recebido suplementação vitamínica ou antibioticoterapia nos últimos seis meses. Foram excluídos os animais que desenvolveram outras doenças durante o protocolo experimental ou os casos em que os tutores não seguiram adequadamente o protocolo experimental estabelecido.

O diagnóstico da IPE foi baseado em: anamnese, exame físico, manifestações clínicas compatíveis com a afecção, baixas concentrações séricas de cTLI e resposta favorável a suplementação de enzimas pancreáticas em pó (WESTERMARCK; WIBERG, 2012a). No processo de seleção dos animais do grupo IPE, foi realizada anamnese completa, avaliação nutricional, exame físico e coleta de 5mL de sangue por venopunção da jugular para realização de hemograma e bioquímicos: mensuração da atividade sérica das enzimas alaninoaminotransferase (ALT) e fosfatase alcalina (FA); mensuração da concentração sérica de albumina, proteínas totais, creatinina, ureia, triglicérides e colesterol; e concentração plasmática de glicose de cada animal. Os pacientes dos quais os tutores não tiveram queixas na anamnese, além das condizentes com a IPE, e alterações em exame físico foram considerados aptos a participarem do estudo.

Para o grupo controle, foram selecionados 10 cães saudáveis, com características semelhantes (sexo, idade e porte) dos animais do grupo teste. A seleção foi realizada por meio de divulgação do projeto em redes sociais. Foram considerados saudáveis os animais que apresentaram anamnese sem queixas, exame físico sem alterações e resultados dos exames laboratoriais (hemograma,

leucograma, função renal e função hepática) dentro do intervalo de referência para a espécie.

Após triagem, os animais do grupo IPE passaram por período de estabilização do quadro, no qual foi ajustada a dose de enzimas pancreáticas para a menor possível, com a qual não foram observadas manifestações gastroentéricas ou perda de peso. Foram considerados estáveis os pacientes que mantiveram o peso e ECC ideais (4 ou 5/9) (LAFLAMME, 1997) e Escore de massa muscular (EMM) adequado (3/3) (MICHEL et al., 2011) por no mínimo 30 dias. Neste período, os cães receberam um alimento comercial^a extrusado indicado para cães adultos em manutenção (Tabela 1), nomeado *alimento controle* (A1). Após estabilização, os animais passaram pelo período experimental 1 (C1), no qual continuaram recebendo o alimento controle e mesma dose de enzimas pancreáticas por 60 dias. Em seguida, por mais 60 dias, no período experimental 2 (C2), os animais receberam um alimento seco extrusado coadjuvante formulado para doenças gastrointestinais, denominado de *alimento teste* (A2) (Tabela 1). Os principais diferenciais dos dois alimentos utilizados neste estudo encontram-se apresentados no Quadro 1.

Tabela 1 – Composição química (em matéria seca) dos alimentos empregados no estudo

<i>Item</i>	<i>A1</i>	<i>A2</i>
Proteína bruta (%)	26,0	25,0
Extrato etéreo (%)	16,0	16,0
Extrativos não-nitrogenados (%)	39,0	35,0
Fibra bruta (%)	4,0	3,0
Matéria mineral (%)	7,0	8,0

-----INGREDIENTES-----

A1 - Farinha de vísceras de frango, farelo de glúten de milho 60*, ovo desidratado, proteína isolada de suíno, milho integral moído*, quirera de arroz, polpa de beterraba, gordura de frango, óleo de peixe, gordura suína, ácido propiônico, antioxidantes BHA e BHT, cloreto de potássio, cloreto de sódio, hidrolisado de suíno e frango, levedura seca de cervejaria, mananoligossacarídeos (0,20%), parede celular de levedura, vitamina A, vitamina B12, vitamina C, vitamina D3, vitamina E, vitamina K3, ácido fólico, ácido pantotênico, biotina, cloreto de colina, niacina, piridoxina, riboflavina, tiamina, cobre aminoácido quelato, ferro aminoácido quelato, iodeto de potássio, manganês aminoácido quelato, proteinato de selênio, sulfato de cobre, sulfato de ferro, sulfato de manganês, sulfato de zinco, zinco aminoácido quelato.

^a Premier Fórmula Raças Médias. Grandfood Ind e Com LTDA; Dourado, Brasil.

A2 - Proteína hidrolisada de frango, proteína isolada de soja, proteína isolada de suíno, quirera de arroz, polpa de beterraba, celulose, gordura de frango, óleo de peixe refinado, antioxidante BHA e BHT, cloreto de potássio, cloreto de sódio, DLmetionina, hidrolisado de fígado de aves e suíno, levedura seca de cana-de-açúcar, aditivo prebiótico (1%) (mananoligossacarídeos, fruto-oligossacarídeos, galactooligossacarídeos), fosfato bicálcico, carbonato de cálcio, ácido propiônico, bentonita, taurina, vitamina A, vitamina B12, vitamina C, vitamina D3, vitamina E, vitamina K3, ácido fólico, ácido pantotênico, biotina, cloreto de colina, niacina, piridoxina, riboflavina, tiamina, ferro aminoácido quelato, iodeto de potássio, manganês aminoácido quelato, selênio metionina, sulfato de cobre, sulfato de ferro, sulfato de zinco, sulfato de manganês, zinco aminoácido quelato, cobre aminoácido quelato.

Legenda: A1 = alimento controle; A2 = alimento teste

Quadro 1 – Enriquecimento por quilograma de produto dos alimentos empregados no estudo

Nutriente	A1	A2
Ácido fólico (mg)	1,56	2,00
Ácido pantotênico (mg)	24,00	40,00
Biotina (mg)	0,33	6,00
Cobre (mg)	15,91	12,00
Colina (mg)	109,50	700,00
Ferro (mg)	70,00	150,00
Iodo (mg)	1,12	1,55
Manganês (mg)	28,00	10,00
Niacina (mg)	39,60	19,20
Selênio (mg)	0,06	0,40
Vitamina A (UI)	18.000	24.000
Vitamina B12 (mcg)	170,00	1.500
Vitamina C (mg)	20,40	120,00
Vitamina D3 (UI)	1.200	1.440
Vitamina E (UI)	105,60	448
Vitamina K3 (mg)	1,95	2,00
Zinco (mg)	114,80	120

A1 = alimento controle; A2 = alimento teste

Na fase de estabilização, inicialmente a quantidade diária de alimento foi fornecida de acordo com a estimativa de necessidade energética de manutenção

(NEM) = $130 \times (PC)^{0,75}$. Os animais foram mantidos com a enzima pancreática que recebiam habitualmente. Inicialmente a dose prescrita foi de 0,5g/kg e ajustada para 1g/kg do preparo enzimático se as manifestações clínicas persistissem. A composição das enzimas pancreáticas usadas no estudo está apresentada na Tabela 2. Foram realizadas reavaliações mensais para acompanhamento de peso e ECC.

Tabela 2 – Composição dos produtos enzimáticos usados no estudo

Produto	Lipase (USP/mg)	Protease (USP/mg)	Amilase (USP/mg)
A	13,4	77	146
B	16,3	105	203
C	18,9	112	246
D	9,8	85	129
E	13,2	85	130
F	23,1	165	250

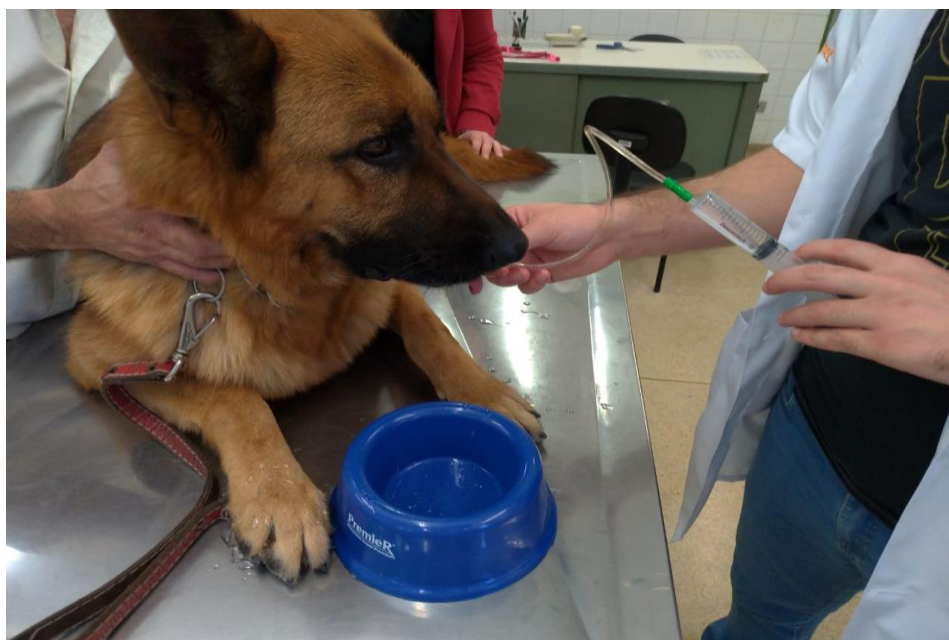
USP = unidade de atividade enzimática determinada segundo a *United States Pharmacopeia*

A quantidade de alimento foi fracionada em duas refeições diárias e, os animais com IPE recebiam a suplementação das enzimas pancreáticas em pó misturada ao alimento. Ao final de cada período experimental (60º dia de ingestão do alimento e avaliação), os animais retornaram ao Hospital Veterinário sob jejum de 12 horas para coleta de 10mL de sangue por venopunção da jugular. Deste volume, 2mL foram acondicionados em tubo com EDTA para realização de hemograma e 8mL em tubo seco com gel separador para obtenção de soro, o qual foi separado em alíquotas: 500µL foram utilizados imediatamente para mensuração da atividade sérica das enzimas alaninoaminotransferase (ALT) e fosfatase alcalina (FA); concentração sérica de albumina, proteínas totais, creatinina, ureia, triglicérides e colesterol. Outras seis alíquotas individuais foram acondicionadas em criotubos e congeladas a -80°C para posterior mensuração da concentração sérica de cobalamina e ácido fólico no *Gastrointestinal Laboratory* da *Texas A&M University*, EUA. As concentrações de cobalamina e folato foram avaliadas por meio de imunoensaio por quimioluminescência, em painéis validados para a espécie canina.

Após a coleta de sangue, os cães foram avaliados quanto a permeabilidade intestinal. Para esta avaliação, receberam por via oral, ainda em jejum, 2mL/kg de peso corporal de iohexol (Omnipaque-350) (KLENNER et al., 2009). Os tutores foram

orientados a trazerem o recipiente de comida do cão onde o marcador iohexol era colocado para ingestão voluntária. Caso o animal não aceitasse o iohexol de forma voluntária, o marcador era fornecido por meio da utilização de uma seringa acoplada a uma sonda com intuito de garantir a ingestão de todo o volume de líquido (Figura 2). As seringas foram pesadas em balança de precisão antes e depois da aplicação para registro da quantidade de ingestão. O mesmo protocolo de aplicação do iohexol foi adotado para todos os animais dos dois grupos experimentais. Definiu-se que, caso o animal relutasse na ingestão adequada do iohexol, ele seria excluído da análise de permeabilidade intestinal. As amostras de sangue (2mL) foram coletadas duas horas após a administração oral da solução e, na sequência, centrifugadas a 5.000 RPM, por 12 minutos, para obtenção do soro que foi congelado a -80° C. As amostras foram enviadas para o *Gastrointestinal Laboratory* da *Texas A&M University*, nos EUA, em gelo seco onde o iohexol foi determinado por cromatografia líquida de alta performance (KLENNER et al., 2009; FRIAS et al., 2012).

Figura 2 – Administração do iohexol por meio de seringa e sonda



Fonte: Oliveira, V.V. (2022)

Entre o 56^o e 58^o dia de cada período experimental, foi realizada coleta total de fezes pelos tutores, para determinação da digestibilidade dos nutrientes (LINDAHL, 1963). Os tutores foram previamente orientados quanto a pesagem (alimento e fezes) e ao armazenamento correto das amostras para as análises. Foi fornecido um

conjunto de materiais para correta obtenção dos dados: sacos plásticos padronizados e separados por dia, diário de pesagem de fezes e alimento (ANEXO A), luvas, potes e orientações básicas para o armazenamento correto. O protocolo foi baseado nas recomendações da AAFCO (2019), sendo previamente explicado aos tutores antes do início do experimento. As amostras de fezes foram congeladas (-20°C) nas residências dos mesmos, devidamente separadas e, depois transportadas em isopor ou bolsa térmica para o HOVET-FMVZ/USP no dia das coletas de sangue. As amostras permaneceram congeladas (-20°C) até o final do experimento. Após todas as coletas, as fezes foram analisadas no Laboratório Multiusuário de Nutrição Animal e Bromatologia do Departamento de Nutrição e Produção Animal da FMVZ/USP, situado no campus Fernando Costa em Pirassununga-SP. As fezes foram descongeladas e homogeneizadas, formando uma amostra única (*pool* fecal) por animal. Posteriormente, foram pesadas e secas em estufa de ventilação forçada na temperatura de 55°C, por 72 horas (AOAC, 2006). As fezes pré-secas foram então moídas em moinho de facas tipo Willey^b. As amostras de alimento foram moídas em moinho analítico^c. Após as moagens, foram retiradas subamostras das fezes e dos alimentos para a determinação dos teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo em hidrólise ácida (EEHA), matéria mineral (MM) e fibra bruta (FB), segundo as metodologias descritas pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 1995). Os extrativos não-nitrogenados (ENN) de cada amostra foram calculados pela diferença entre a MS total e a soma da PB, EEHA, FB e MM. A matéria orgânica (MO) foi calculada a partir da diferença entre MS e MM. Todas as análises foram realizadas em duplicata, com exceção da FB que foi realizada em triplicata.

No dia das coletas de sangue, ao final de cada período experimental, foram coletadas amostras fecais, com o uso de luva estéril, para análise de microbiota fecal, armazenadas em tubos criogênicos e congeladas a -80°C. A microbiota fecal dos cães foi avaliada seguindo a metodologia do índice de disbiose fecal, cujas determinações foram realizadas no *Gastrointestinal Laboratory* da *Texas A&M University*. Foram quantificadas a abundância de sete grupos bacterianos (*Faecalibacterium*, *Turicibacter*, *Escherichia coli*, *Streptococcus*, *Blautia*, *Fusobacterium* e *Clostridium hiranonise*) e as bactérias totais por meio de um ensaio de PCR e foi obtido um único número, denominado índice de disbiose, onde valores <0 indicam microbiota intestinal

^b Marconi MA340, Piracicaba, Brasil

^c Ika A11 Basic Mill, Staufen, Alemanha

saudável e valores ≥ 0 são sugestivos de disbiose intestinal (ALSHAWAQFEH et al., 2017).

Os dados das análises de digestibilidade e índice de disbiose foram analisados no software computacional *Statistical Analysis System*, versão 9.4^d. Foram previamente verificadas a normalidade dos resíduos pelo teste de Shapiro-Wilk (PROC UNIVARIATE) e a homogeneidade das variâncias pelo teste de Levine. Para as variáveis que não atenderam as premissas, foi aplicada transformação logarítmica ($\log x + 1$). A análise de variância foi realizada pelo PROC MIXED, considerando o nível de significância de 5%.

Para análise comparativa entre os grupos, os dados de mensuração de cobalamina sérica, permeabilidade intestinal também foram analisados pelo programa SAS. Inicialmente foram verificadas a normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias através dos testes de Shapiro Wilk e teste T-Student, respectivamente. Para a comparação entre os grupos (controle e IPE) e o efeito dos dois alimentos empregados no estudo foi realizado teste de ANOVA com medidas repetidas no tempo. Quando houve diferença entre as médias foi realizado o teste de Tukey. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos para todas as variáveis.

^d SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA

6 RESULTADOS

6.1 ANIMAIS

Foram triados 16 animais com insuficiência pancreática exócrina para compor o grupo IPE, três cães não atenderam os critérios de inclusão por possuírem outras doenças além da IPE. Dos 13 animais que iniciaram o estudo, dois foram excluídos por motivos pessoais dos tutores; e um foi excluído por ter desenvolvido neoplasia no decorrer de um dos períodos experimentais. Assim, 10 animais com IPE concluíram os dois períodos do estudo e seus dados foram incluídos nas análises. A idade dos cães variou de três a seis anos e a média de faixa etária do grupo foi de $4,8 \pm 3,33$ anos de idade. Na Tabela 3 podem ser observadas as informações de cada paciente incluso no estudo.

Tabela 3 - Características individuais dos animais do grupo IPE (n=10) inclusos no estudo

ID	Raça	Idade (anos)	Condição reprodutiva	Peso corporal (Kg)	ECC	EMM	Suplemento enzimático
1	Pastor Alemão	3	MC	43	5	3	A
2	Pastor Alemão	2	FC	38	5	3	F
3	Pastor Suíço	2	MC	44	5	3	A
4	Border Collie	3	FC	18	4	3	F
5	SRD	4	FC	11	5	3	B
6	SRD	3	FC	15,8	4	3	C
7	SRD	6	FC	7,7	5	3	D
8	SRD	4	FC	19	4	3	E
9	SRD	4	FC	14	5	3	F
10	Pit Bull	3	FC	30,5	5	3	F
Média		3,9		24,1	5,2	3	-

ID: identificação; MC: macho castrado; FC = fêmea castrada; ECC = escore de condição corporal; EMM = escore de massa muscular

Foram inclusos 12 animais saudáveis como parte do grupo controle, porém, dois cães foram excluídos do estudo por incapacidade dos tutores em finalizar os períodos experimentais. Logo, o grupo controle foi constituído por 10 animais saudáveis. Cinco cães do grupo controle residiam no mesmo local que quatro cães do grupo IPE, o que auxiliou no manejo e diminuição de erros com relação a coleta de

fezes, pois os tutores já estavam aptos e treinados para as devidas atividades. As características individuais dos cães do grupo controle podem ser observadas na Tabela 4.

Tabela 4 - Características individuais dos animais do grupo controle (n=10) inclusos no estudo

ID	Raça	Idade (anos)	Condição reprodutiva	Peso corporal (Kg)	ECC	EMM
1	Labrador	8	FC	28	5	3
2	Labrador	3	MC	32	5	3
3	Samoieda	6	FC	30	5	3
4	Pastor Alemão	3	MI	42	5	3
5	Border Collie	4	FC	25	5	3
6	Border Collie	3	MC	16,8	5	3
7	SRD	5	FC	9,7	5	3
8	SRD	4	MC	18,5	4	3
9	SRD	4	MC	15,7	5	3
10	Boxer	3	MC	25,8	5	3
Média		4	-	25,9	4,9	3

FC = fêmea castrada; MC = macho castrado; ECC = escore de condição corporal; EMM = escore de massa muscular

6.2 DIGESTIBILIDADE APARENTE DOS NUTRIENTES

Os animais dos dois grupos experimentais apresentaram ingestão total diária dos dois alimentos utilizados no estudo. Não houve relato, por parte dos tutores, de sobra das dietas oferecidas e da impossibilidade de coleta de fezes.

Na comparação da digestibilidade dos macronutrientes da dieta entre os grupos IPE e grupo controle, consumindo o alimento A1, foram observados maiores coeficientes de digestibilidade aparente da proteína bruta, gordura e extrativos não-nitrogenados no grupo de cães saudáveis em comparação aos cães com IPE (Tabela 5).

A segunda comparação foi entre os animais saudáveis e os do grupo IPE, consumindo o alimento gastrointestinal (Tabela 6). A terceira comparação foi realizada entre o grupo IPE recebendo as duas dietas, como forma de avaliar se o alimento

gastrointestinal influenciaria na melhora da digestibilidade dos animais com IPE (Tabela 7).

Tabela 5 – Coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes (%) dos cães saudáveis (Controle) e com insuficiência pancreática exócrina (IPE) após a ingestão do alimento de manutenção

	Grupo		EPM	Valor de p
	Controle	IPE		
	Coeficientes de digestibilidade (%)			
Matéria seca	82,81	70,89	2,806	0,0084
Matéria orgânica	86,76	74,06	2,622	0,0035
Proteína bruta	85,67	68,94	3,498	0,003
Extrato etéreo em hidrólise ácida	96,19	79,48	3,210	0,0018
Matéria mineral	33,65	24,94	4,180	0,1781
Fibra bruta	74,80	71,29	2,468	0,3296
Extrativos não-nitrogenados	86,55	79,96	1,603	0,0104

EPM= erro padrão da média

Tabela 6 – Coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes (%) dos cães saudáveis (Controle) e com insuficiência pancreática exócrina (IPE) após a ingestão do alimento gastrointestinal

	Grupo		EPM	Valor de p
	Controle	IPE		
	Coeficientes de digestibilidade (%)			
Matéria seca	84,81	76,13	3,519	0,1110
Matéria orgânica	88,57	79,33	3,139	0,0640
Proteína bruta	87,78	79,48	2,938	0,0738
Extrato etéreo em hidrólise ácida	97,34	76,83	5,413	0,0232
Matéria mineral	36,69	42,66	7,716	0,6149
Fibra bruta	75,45	71,33	5,867	0,6301
Extrativos não-nitrogenados	88,74	83,96	2,255	0,1651

EPM= erro padrão da média

Tabela 7 – Coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes (%) dos cães com insuficiência pancreática exócrina sob a ingestão dos alimentos de manutenção e gastrointestinal

	Tratamentos (alimentos)		EPM	Valor de p
	Manutenção	Gastrointestinal		
	Coeficientes de digestibilidade (%)			
Matéria seca	69,01	76,14	4,721	0,0793
Matéria orgânica	72,17	79,33	4,641	0,0458
Proteína bruta	66,77	79,49	6,256	0,0152
Extrato etéreo em hidrólise ácida	70,52	76,83	8,796	0,2510
Matéria mineral	25,97	42,66	8,478	0,0765
Fibra bruta	70,05	71,33	7,577	0,8855
Extrativos não-nitrogenados	79,24	83,96	2,727	0,0459

EPM= erro padrão da média

6.3 PERMEABILIDADE INTESTINAL

As concentrações séricas de iohexol determinadas foram maiores no grupo IPE em comparação ao grupo controle (Tabela 8). Porém, os resultados não apresentaram diferença dentro do grupo IPE ao compararmos os dois alimentos avaliados (manutenção vs gastrointestinal).

Tabela 8 – Permeabilidade intestinal dos cães saudáveis (controle) e com insuficiência pancreática exócrina (IPE) após a ingestão dos dois alimentos experimentais

Variável	Grupo	Tratamentos		p		
		T0	T60	Tratamento	Grupo	Interação Tratamento*Grupo
Permeabilidade intestinal	Controle	44,70 ^B	45,42 ^B	0,7129	0,0448	0,9656
	IPE	72,93 ^A	69,33 ^A	-	-	-

^{A,B}Letras maiúsculas diferentes na coluna demonstram diferenças entre grupos (Controle x IPE)

6.4 COBALAMINA E FOLATO

As concentrações séricas de cobalamina aumentaram tanto no grupo IPE, como no grupo controle após a ingestão do alimento gastrointestinal (A2) durante 60 dias. Com relação às concentrações de folato, não houve diferença entre os tratamentos e grupos (Tabela 9).

Tabela 9 – Concentrações séricas de cobalamina e folato de cães saudáveis (Controle) e cães com insuficiência pancreática exócrina (IPE) após a ingestão dos alimentos experimentais

Variável	Grupo	Tratamentos		p		
		T0	T60	Tratamento	Grupo	Interação Tratamento*Grupo
Cobalamina	Controle	493,67 ^{Ab}	909,89 ^{Ba}	<,0001	0,3445	0,0140
	IPE	403,2 ^{Ab}	1100,00 ^{Aa}	-	-	-
Folato	Controle	12,30	12,34	0,5575	0,5705	0,7735
	IPE	12,62	12,80	-	-	-

Legenda: ^{A,B}Letras maiúsculas diferentes na coluna demonstram diferenças entre grupos (Controle x IPE); ^{a,b}Letras minúsculas diferentes na linha demonstram diferenças entre tratamentos (TO x T60)

6.5 ÍNDICE DE DISBIOSE

Com base nos resultados encontrados, ao se comparar o índice de disbiose (ID) entre os grupos, após a ingestão do alimento gastrointestinal (A1), foi observado maior índice médio nas fezes dos cães do grupo IPE. Os valores individuais e médios dos dois grupos estão apresentados na Tabela 10. Não foi encontrada diferença no índice de disbiose intestinal dos cães do grupo IPE após 60 dias de ingestão do alimento A2.

Tabela 10 – Índices de disbiose (ID) determinados nas fezes dos cães saudáveis (Controle) e com insuficiência pancreática exócrina (IPE) após a ingestão dos dois alimentos experimentais

Animal	Grupo	Tratamentos	
		T0	T60
Animal 1	Controle	-	-3,40
	IPE	0,40	2,40
Animal 2	Controle	-	-3,80
	IPE	0,70	-3,50
Animal 3	Controle	-	-2,80
	IPE	-2,30	-2,70
Animal 4	Controle	-	-1,80
	IPE	-2,10	-3,10
Animal 5	Controle	-	-2,90
	IPE	-3,80	-4,90
Animal 6	Controle	-	-2,20
	IPE	-0,20	-3,60
Animal 7	Controle	-	-2,00
	IPE	5,80	5,90
Animal 8	Controle	-	-6,80
	IPE	-1,00	2,00
Animal 9	Controle	-	-1,40
	IPE	4,50	-0,10
Animal 10	Controle	-	-5,70
	IPE	-5,50	-5,80
Média	Controle	-	-3,28
	IPE	-0,35	-1,34
p	Grupo T60 (Controle x IPE)	Tratamento (T0 X T60)	
		0,0287	0,0648

Os resultados das variáveis bioquímicas analisadas (Albumina, ALT, FA, ureia, creatinina, triglicérides e colesterol) não apresentaram diferenças entre os grupos e, estão apresentados no Anexo B.

7 DISCUSSÃO

No presente estudo, a população de animais com insuficiência pancreática exócrina avaliada foi representada em sua maioria por cães sem raça definida, o que destoa de alguns estudos nos quais os autores mostraram que os cães da raça Pastor Alemão representaram 60% de todos os casos (BATCHELOR et al., 2007b; WESTERMARCK; SAARI; WIBERG, 2010; CLARK; COX, 2012b; GERMAN, 2012b). Alguns autores apontaram que quando a IPE ocorre em cães de raças não predispostas, possivelmente é de ocorrência tardia e devido a outra causa, como a pancreatite crônica (BATCHELOR et al., 2007b; GERMAN, 2012b). No entanto, todos os cães desse estudo apresentaram as manifestações clínicas da IPE ainda jovens, conforme relatado pelos tutores. Com relação ao sexo, em algumas publicações, as fêmeas foram mais representadas (WIBERG; SAARI; WESTERMARCK, 1999; GERMAN, 2012b), essa informação vai de encontro aos dados do presente estudo, no qual 80% dos cães com IPE avaliados também eram fêmeas.

Com relação ao manejo nutricional dos cães com IPE, neste estudo os cães foram submetidos a dois tipos diferentes de dieta, porém, os dois alimentos tinham em sua composição mesma quantidade de gordura (160g/kg). Dos 10 cães avaliados, somente um deles (ID 6) foi diagnosticado no momento da triagem do projeto, os outros nove pacientes já eram tratados e acompanhados por médicos-veterinários. Dos nove cães já tratados, quatro deles (ID 1, 4, 7, 8) recebiam antes do estudo, um alimento comercial^e seco extrusado classificado como coadjuvante para doenças do trato gastrointestinal com baixo teor de gordura (50g/kg). Os tutores desses cães ficaram receosos na modificação para um alimento que continha maior teor de gordura pela possibilidade de retorno das manifestações clínicas, principalmente para os animais que apresentaram esteatorreia antes do diagnóstico. Porém, apesar de não apresentarem as manifestações clínicas após terapia de reposição enzimática associada ao manejo com alimento de baixo teor de gordura, esses quatro animais apresentavam baixo ECC (média 2,5/9) e baixo EMM (média 1/4) para iniciarem a fase de estabilização. Ao mudarmos para o alimento A1, indicado para cães adultos em manutenção, que continha 16% de gordura na composição associado a manutenção das quantidades de enzimas pancreáticas fornecidas, somente um

^e Low Fat Royal Canin, Descalvado, Brasil.

animal apresentou manifestação clínica (esteatorreia), que com o aumento da dose (de 0,6g/kg para 1,2g/kg de peso corporal) foi controlada. Dados semelhantes foram relatados em humanos com IPE, para os quais a restrição de gordura é desencorajada e, caso seja um paciente não responsivo a dose enzimática inicial prescrita, recomenda-se o aumento, mais especificamente da lipase (HAMMER, 2010; PONGPRASOBCHAI, 2013). Importante salientar que após as recomendações sugeridas, os quatro animais alcançaram o ECC ideal (5/9) e o ganho de massa muscular foi evidente (EMM 3/3).

As informações desses quatro cães do estudo condizem com os dados publicados na literatura a respeito do papel da gordura no manejo nutricional da IPE, especialmente relacionado ao ganho de peso e melhora da condição corporal e muscular (WESTERMARCK; JUNTILA, 1995; WIBERG; LAUTALA; WESTERMARCK, 1998; SUZUKI et al., 1999; WESTERMARCK; WIBERG, 2006; GERMAN, 2012a). Biourge et al. (2004) demonstraram que cães com IPE e reação adversa ao alimento apresentaram resposta satisfatória ao serem manejados com dieta de alta digestibilidade e alto teor de gordura (19%). Mesmo sendo uma prática comum entre os médicos-veterinários, a restrição dietética de gordura não é a primeira opção em se tratando do manejo nutricional do cão com IPE. Semelhante ao encontrado na literatura em relação às recomendações para pacientes humanos, o aumento da dose do suplemento enzimático, principalmente de lipase, em cães que não respondem ao tratamento inicial parece ser a melhor indicação (DOMÍNGUEZ-MUÑOZ, 2007; FRULLONI et al., 2010; TOOULI et al., 2010; DIMAGNO; DIMAGNO, 2012).

Com relação a “melhor dose” de enzimas pancreáticas, na literatura não foram encontrados estudos que tenham avaliado esse aspecto em cães com IPE. Porém, alguns autores recomendam (provavelmente baseado em experiência prática), a dose de uma colher de chá de extrato pancreático para cada 10kg de peso corporal (WIBERG; LAUTALA; WESTERMARCK, 1998; GERMAN, 2012a).

Ao analisarmos a composição de todas as enzimas administradas aos cães avaliados nesse projeto (Tabela 2), foi possível observar que são muito variáveis, logo, as doses precisam ser estabelecidas de acordo com a concentração de cada enzima nos diferentes produtos comerciais e, frente a resposta individual de cada animal.

Na medicina humana, a dose recomendada é individual e, em alguns artigos as dosagens foram baseadas nas quantidades de lipase por refeição (HAMMER, 2010;

LINDKVIST, 2013; PONGPRASOBCHAI, 2013). A recomendação é aumentar a dose de lipase caso o paciente não responda à terapia de reposição enzimática de forma adequada. No presente estudo, o único cão que apresentou esteatorreia persistente após a mudança para alimento de manutenção (ID 7), recebia o preparo enzimático que apresentava menor quantidade de lipase (9,8 USP/mg) e, ao dobrarmos a dose de fornecimento, sem alteração no manejo alimentar, a esteatorreia foi controlada.

Logo, com base nesse comparativo dos seis diferentes preparos enzimáticos e nas respostas individuais de cada cão, é possível concluir que a dose de suplementação pancreática precisa ser determinada de forma individual, levando-se em consideração a composição do preparo e não a quantidade final ofertada. Caso não seja observada resposta satisfatória, é mais aconselhável aumentar a dose, principalmente de lipase ou optar por um preparo enzimático com maiores concentrações de lipase, mas não recomendar a restrição de gordura.

Os coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes determinados no presente estudo demonstraram que os animais com IPE, mesmo em suplementação enzimática e sem apresentar manifestações clínicas da doença, com ECC e EMM ideais ou próximos do ideal, apresentaram menor aproveitamento da proteína, gordura e carboidratos da dieta. Não foram localizadas informações similares na literatura para discussão dos resultados encontrados no nosso estudo, mas eles reforçam a importância de se fornecer aos cães com IPE um alimento de alta digestibilidade, independente do quadro clínico. Os resultados apresentados na Tabela 7 demonstraram que o emprego do alimento formulado com ingredientes de maior digestibilidade resultou no melhor aproveitamento da proteína pelos cães acometidos pela doença e, este efeito provavelmente contribuiu também para o ganho ou manutenção de massa magra nos cães. A menor digestibilidade dos nutrientes provavelmente seja um dos fatores que justifiquem o emprego de constantes maiores para o cálculo da necessidade energética de manutenção em cães com IPE, quando comparados com cães saudáveis (PEDRINELLI et al., 2019). Todavia, outros fatores precisam ser estudados para reforçar esta recomendação.

Os dados apresentados na Tabela 8 apontaram que mesmo com a doença controlada, os cães com IPE possuem permeabilidade intestinal (PI) aumentada quando comparada aos cães saudáveis. O aumento da permeabilidade intestinal pode contribuir para a piora do quadro e também originar outras disfunções gastrointestinais (RUTGERS et al., 1995; FRIAS et al., 2012).

Uma hipótese especulada para o aumento da permeabilidade intestinal também observado em pessoas com IPE se baseia na possibilidade de que a suplementação de enzimas pancreáticas pode produzir danos na barreira intestinal e, conseqüentemente, aumentar a permeabilidade (MACK et al., 1992). Todavia, alguns estudos com pessoas não confirmaram essa hipótese. Os autores observaram que a PI não alterou após aumento da dose de suplementação de enzimas pancreáticas (MURPHY et al., 1989; MACK et al., 1992a; VAN ELBURG et al., 1996).

A desnutrição grave pode estar associada ao aumento da permeabilidade intestinal (HEYMAN et al., 1984; LUNN; NORTHROP-CLEWES; DOWNES, 1991). A IPE pode ser considerada um quadro onde os animais desenvolvem sinais de desnutrição, principalmente por se tratar de uma doença que, por muitas vezes, apresenta diagnóstico tardio em medicina veterinária. Todavia, considerando que a maior parte dos cães avaliados neste estudo estavam com a doença controlada e em adequada condição nutricional, essa talvez não seja a explicação mais plausível para os achados aqui apresentados. Alguns autores apontaram que a alteração do pH intestinal conseqüente a menor secreção de bicarbonato também pode ser um fator associado ao aumento da permeabilidade intestinal e foi relatado em humanos e roedores (COX, KENNETH L.; ISENBERG, J. NEVIN; AMENT, 1982; JURIC et al., 2013).

Na medicina humana, o papel da intervenção dietética na melhora da permeabilidade intestinal é um assunto muito discutido (BIOLATO et al., 2019; KHOSHBIN; CAMILLERI, 2020; ROHR et al., 2020), porém, ao compararmos o efeito da dieta de alta digestibilidade nos cães com IPE apresentados nesse estudo, não houve mudança significativa ($p=0,739$) na permeabilidade intestinal. Em uma revisão recente, os autores buscaram relacionar todos os estudos que associaram fatores nutricionais e dietéticos com a regulação da permeabilidade intestinal em humanos e, os achados não são conclusivos, por mais que existam evidências sobre a interação de nutrientes com a barreira intestinal, os mecanismos precisos de interação da dieta com a melhora na permeabilidade intestinal ainda não são claros e, mais estudos são fundamentais para associar o perfil dietético como potencial estratégia terapêutica na regulação da barreira intestinal (SUZUKI, 2020).

Com os dados obtidos neste estudo ficou evidente a presença de alteração na barreira intestinal de cães com IPE, mesmo sem manifestações clínicas da doença, quando comparada à de cães saudáveis. Todavia, mais estudos são necessários para

avaliar o impacto clínico dessa alteração e possível correção e, efeitos da dieta sobre a permeabilidade intestinal de cães e gatos em diferentes situações. Não foi encontrado nenhum artigo na literatura que os autores tivessem avaliado a permeabilidade intestinal de cães com IPE, aspecto que dificultou a discussão dos resultados encontrados no presente trabalho.

A interação entre as bactérias intestinais e células epiteliais e o impacto da microbiota intestinal na permeabilidade intestinal é alvo de pesquisas recentes na medicina humana (ALLAM-NDOUL; CASTONGUAY-PARADIS; VEILLEUX, 2020). Em nosso estudo, os cães com IPE apresentaram índice de disbiose alterado quando comparado ao de cães saudáveis. Essa alteração da microbiota intestinal observada, é outro fator que pode estar relacionado com o aumento da permeabilidade intestinal.

O índice de disbiose aumentado no grupo de cães com IPE, em comparação com cães saudáveis avaliados após padronização do alimento durante 60 dias (Tabela 10) corroborou os resultados encontrados nos dois únicos artigos que avaliaram a microbiota fecal de cães com IPE (ISAIAH et al., 2017b; BLAKE et al., 2019). Porém, em nenhum desses estudos publicados anteriormente a dieta foi padronizada, aspecto que os próprios autores reconhecem como uma limitação, tendo em vista o potencial efeito da composição do alimento na modulação da microbiota do intestino. Todavia, como o nosso estudo foi o primeiro a padronizar o alimento para todos os animais, servirá de base para confirmar os achados dos estudos anteriores que não a padronizaram.

Em um estudo com camundongos, os autores observaram que a suplementação de enzimas digestivas, principalmente a lipase, apresentou efeito modulador da microbiota intestinal, contribuindo para a proliferação de bactérias benéficas e, possivelmente, pode ter atenuado as manifestações clínicas da disbiose na IPE (NISHIYAMA et al., 2018). Logo, um fator limitante da avaliação da microbiota fecal na presente pesquisa, é que os animais foram suplementados com diferentes tipos de enzimas digestivas. Todavia, nos estudos citados anteriormente, tanto cães suplementados com enzimas como não suplementados, apresentaram disbiose (ISAIAH et al., 2017b; BLAKE et al., 2019). Dessa forma, pode-se concluir que mesmo com a padronização das enzimas e do alimento, cães com insuficiência pancreática exócrina apresentam disbiose intestinal.

Ao avaliarmos o efeito do alimento A2 (gastrointestinal) no índice de disbiose dos animais do grupo IPE, não houve alteração significativa após 60 dias de ingestão

do alimento teste (Tabela 10), mas tendência de modulação. O alimento A2 tinha em sua composição prebióticos com potencial modulador da microbiota de cães saudáveis (GOS, MOS) já previamente avaliados por nosso grupo de pesquisa (RENTAS et al., 2022; dados não publicados). Porém, inexitem dados na literatura quanto ao tempo de modulação da microbiota intestinal em cães com doenças gastrointestinais por meio de prebióticos. Como o resultado obtido foi próximo do considerado significativo (tendência) e, ao avaliarmos os índices de disbiose individuais de cada animal do grupo IPE, é possível que com mais tempo de ingestão do alimento os resultados poderiam ter diferido.

A caracterização da microbiota intestinal de cães com IPE e outras doenças crônicas do trato gastrointestinal é fundamental para elucidar possíveis novas estratégias terapêuticas. O tratamento da disbiose ocasionada pela IPE em cães é baseada na administração de antibióticos, porém, outros métodos podem ser mais benéficos para alterar a microbiota intestinal, como o manejo nutricional com alimentos formulados com a inclusão de prebióticos, probióticos, simbióticos e posbióticos ou na forma de suplementação (WHITE et al., 2017; PINNA et al., 2018; RITZ et al., 2020).

Após 60 dias de ingestão do alimento A2 pelos cães do estudo, observamos aumento significativo da cobalamina sérica tanto no grupo controle como no IPE (Tabela 9). Na medicina humana, a suplementação oral de cobalamina já é utilizada há muitos anos (KUZMINSKI et al., 1998). Porém, na medicina veterinária é um assunto recente. O protocolo tradicional é realizado por meio da suplementação parenteral de cobalamina em cães com IPE que apresentam hipocobalaminemia ou até mesmo nos casos que não apresentam mensuração dessa vitamina. A suplementação é uma prática comum entre os médicos-veterinários, tendo em vista a fisiopatogenia da doença, uma vez que o pâncreas e a secreção pancreática possuem papel fundamental na absorção de cobalamina pela produção e ação do fator intrínseco (SIMPSON; MORTON; BATT, 1989).

Os benefícios da suplementação oral de cobalamina em diferentes doenças do trato gastrointestinal de cães e gatos estão em fase de avaliação. Resultados positivos foram observados por alguns autores em cães com enteropatias crônicas (TORESSON et al., 2016; 2018) e em gatos que apresentavam hipocobalaminemia (TORESSON et al., 2017). Uma explicação plausível para o aumento da cobalaminemia após suplementação oral, é a possibilidade da existência de outra via

absortiva de cobalamina em cães e gatos, já descrita em seres humanos (DOSCHERHOLMEN; HAGEN, 1957; BERLIN; BERLIN; BRANTE, 1968; KIM et al., 2011). Essa possível via alternativa para absorção de cobalamina, que é independente do fator intrínseco, é responsável por apenas 1,0% da absorção, quando comparado aos 60% da absorção pela via dependente do FI. Logo, ao se fornecer quantidades habituais de cobalamina, presentes em dietas de manutenção, por via oral, para esses pacientes que não produzem FI, essa via alternativa não é suficiente. Todavia, ao se fornecer altas concentrações de vitamina B12, possivelmente, essa via absortiva seja suficiente para normalizar as concentrações séricas de cobalamina (KIM et al., 2011).

De acordo com o único trabalho que avaliou a suplementação oral de cobalamina em cães com IPE, desenvolvido por Toresson e colaboradores (2021), o emprego dessa via foi eficiente para normalizar as concentrações séricas desta vitamina após período médio de 41 dias de suplementação, porém, as dietas oferecidas aos cães não foram padronizadas. Resultado semelhante foi observado no presente estudo, todavia, a suplementação oral foi realizada via dieta, ou seja, o alimento foi formulado com altas concentrações de cobalamina (1.500mcg/kg) (Quadro 1), estratégia de suplementação ainda não explorada, aspecto que também garantiu a padronização da dieta para os animais de ambos os grupos.

A suplementação oral de cobalamina é uma forma mais fácil, barata e acessível em relação às aplicações semanais por via parenteral. Dessa forma, os dados obtidos neste estudo apontam que a inclusão de maiores concentrações de cobalamina no alimento apresenta potencial facilitador para a suplementação desta vitamina em cães acometidos por IPE e, até mesmo para o manejo de cães com outras enteropatias crônicas que demandem sua suplementação.

Com relação às concentrações séricas de folato, os cães com IPE incluídos no presente estudo não apresentaram alterações em nenhum dos períodos avaliados. Os resultados encontrados para o grupo IPE foram semelhantes aos do grupo controle, tanto no período referente a ingestão do alimento A1, como após a ingestão do alimento A2. Conforme já apresentado na revisão desta dissertação, concentrações elevadas de folato podem sugerir disbiose intestinal, principalmente quando associadas a baixas concentrações séricas de cobalamina (SUCHODOLSKI; STEINER, 2003). No entanto, os cães avaliados no presente estudo apresentaram disbiose sem alterações na concentração sérica de folato, o que levanta a

possibilidade de que as mensurações séricas dessas duas vitaminas hidrossolúveis como forma indireta de avaliação da disbiose podem levar a resultados não conclusivos.

7.1 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

O fato da maioria dos cães com IPE incluídos neste estudo já terem recebido reposição enzimática prévia impossibilitou a avaliação das variáveis em momento anterior ao tratamento. Além disso, não foi possível a padronização do suplemento enzimático e desta forma, uma possível definição de dose.

Outra limitação foi o “n” amostral, justificado pelas dificuldades relacionadas ao período de pandemia do COVID-19, tanto no que se refere a condução do estudo, quanto para a triagem e inclusão de novos casos.

8 CONCLUSÕES

Por meio dos resultados obtidos com este grupo de dez cães com insuficiência pancreática exócrina e dez cães saudáveis, a hipótese de que o aumento da ingestão de cobalamina incluída em alimento seria suficiente para elevar as concentrações séricas dessa vitamina hidrossolúvel foi confirmada. Também foi possível observar que cães com IPE apresentam redução importante da digestibilidade dos macronutrientes da dieta, mesmo sob reposição enzimática. Além disso, também foi possível constatar aumento da permeabilidade intestinal nos cães com essa afecção e que a microbiota intestinal (determinada por meio do índice de disbiose) de cães com IPE é diferente da microbiota de cães saudáveis, mesmo em tratamento, padronização da dieta e sem manifestações clínicas da doença.

REFERÊNCIAS

- AAFCO. Association of American Feed Control Officials. **Washington, DC: Official Publication**, 2019.
- ALLAM-NDOUL, B.; CASTONGUAY-PARADIS, S.; VEILLEUX, A. Gut Microbiota and Intestinal Trans-Epithelial Permeability. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 17, p. 1–14, 1 set. 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32899147/>>. Acesso em: 11 abr. 2022.
- ALSHAWAQFEH, M. K. et al. A dysbiosis index to assess microbial changes in fecal samples of dogs with chronic inflammatory enteropathy. **FEMS microbiology ecology**, v. 93, n. 11, 1 nov. 2017. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29040443/>>. Acesso em: 9 abr. 2022.
- AMMORI, B. J. et al. Early increase in intestinal permeability in patients with severe acute pancreatitis: correlation with endotoxemia, organ failure, and mortality. **Journal of gastrointestinal surgery: official journal of the Society for Surgery of the Alimentary Tract**, v. 3, n. 3, p. 252–262, 1999. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10481118/>>. Acesso em: 27 mar. 2022.
- ANTONI, L. et al. Intestinal barrier in inflammatory bowel disease. **World journal of gastroenterology**, v. 20, n. 5, p. 1165–1179, 7 fev. 2014. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24574793/>>. Acesso em: 27 mar. 2022.
- AOAC. **Association of Official Analytical Chemists - Official Methods of Analysis**. 16. ed. [s.l.: s.n.]
- AOAC. **Association of Official Analytical Chemists - Official Methods of Analysis**. Gaithersburg, EUA: AOAC Internacional, 2006.
- BARKO, P. C.; WILLIAMS, D. A. Serum concentrations of lipid-soluble vitamins in dogs with exocrine pancreatic insufficiency treated with pancreatic enzymes. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 32, n. 5, p. 1600–1608, 2018.
- BATCHELOR, D. J. et al. Prognostic factors in canine exocrine pancreatic insufficiency: Prolonged survival is likely if clinical remission is achieved. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 21, n. 1, p. 54–60, jan. 2007a.
- BATCHELOR, D. J. et al. Breed Associations for Canine Exocrine Pancreatic Insufficiency. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 21, n. 2, p. 207–214, mar. 2007b.
- BATT, R. M. et al. Identification and characterization of a pancreatic intrinsic factor in the dog. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.1989.256.3.G517>, v. 256, n. 3, 1989. Disponível em: <<https://journals.physiology.org/doi/abs/10.1152/ajpgi.1989.256.3.G517>>. Acesso em: 27 fev. 2022.
- BATT, R. M. Exocrine Pancreatic Insufficiency. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 23, n. 3, p. 595–608, 1 maio 1993.
- BATT, R. M.; MORGAN, J. O. Role of serum folate and vitamin B12 concentrations in the differentiation of small intestinal abnormalities in the dog. **Research in Veterinary Science**, v. 32, n. 1, p. 17–22, 1 jan. 1982.
- BERLIN, H.; BERLIN, R.; BRANTE, G. Oral treatment of pernicious anemia with high doses of vitamin B12 without intrinsic factor. **Acta medica Scandinavica**, v. 184, n. 4, p. 247–258, 1968. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/5751528/>>. Acesso em: 12 abr. 2022.
- BIOLATO, M. et al. Intestinal permeability after Mediterranean diet and low-fat diet in non-alcoholic fatty liver disease. **World journal of gastroenterology**, v. 25, n. 4, p.

- 509–520, 28 jan. 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30700946/>>. Acesso em: 4 mar. 2022.
- BIOURGE, V. C.; FONTAINE, J. Exocrine Pancreatic Insufficiency and Adverse Reaction to Food in Dogs: A Positive Response to a High-Fat, Soy Isolate Hydrolysate–Based Diet. **The Journal of Nutrition**, v. 134, n. 8, p. 2166S–2168S, 1 ago. 2004. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jn/article/134/8/2166S/4688906>>. Acesso em: 2 mar. 2022.
- BISCHOFF, S. C. et al. Intestinal permeability – a new target for disease prevention and therapy. **BMC Gastroenterology**, v. 14, n. 1, 18 nov. 2014. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/253991/>>. Acesso em: 27 mar. 2022.
- BLAKE, A. B. et al. Altered microbiota, fecal lactate, and fecal bile acids in dogs with gastrointestinal disease. **PLoS one**, v. 14, n. 10, 1 out. 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31671166/>>. Acesso em: 1 mar. 2022.
- BOSI, E. et al. Increased intestinal permeability precedes clinical onset of type 1 diabetes. **Diabetologia**, v. 49, n. 12, p. 2824–2827, dez. 2006. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17028899/>>. Acesso em: 27 mar. 2022.
- BRIGHT, J. M. Pancreatic adenocarcinoma in a dog with a maldigestion syndrome. **J Am Vet Med Assoc.**, v. 187(4), n. PMID: 3875600., p. 420–1., 1985.
- BROWNELL, J. N.; BASHAW, H.; STALLINGS, V. A. Growth and Nutrition in Cystic Fibrosis. **Seminars in respiratory and critical care medicine**, v. 40, n. 6, p. 775–791, 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31659726/>>. Acesso em: 2 mar. 2022.
- CAMILLERI, M. The Leaky Gut: Mechanisms, Measurement and Clinical Implications in Humans. **Gut**, v. 68, n. 8, p. 1516, 1 ago. 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32790068/>>. Acesso em: 27 mar. 2022.
- CLARK, L. A.; COX, M. L. Current Status of Genetic Studies of Exocrine Pancreatic Insufficiency in Dogs. **Topics in Companion Animal Medicine**, v. 27, n. 3, p. 109–112, 2012a. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1053/j.tcam.2012.04.001>>.
- CLARK, L. A.; COX, M. L. Current status of genetic studies of exocrine pancreatic insufficiency in dogs. **Topics in companion animal medicine**, v. 27, n. 3, p. 109–112, ago. 2012b. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23148850/>>. Acesso em: 28 fev. 2022.
- COX, KENNETH L.; ISENBERG, J. NEVIN; AMENT, M. E. Gastric Acid Hypersecretion in Cystic Fibrosis. **Journal of pediatric gastroenterology and nutrition**, v. 1, n. 4, p. 559–566, 1982.
- DAVIES, R. H.; LAWES, J. R.; WALES, A. D. Raw diets for dogs and cats: a review, with particular reference to microbiological hazards. **The Journal of small animal practice**, v. 60, n. 6, p. 329–339, 1 jun. 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31025713/>>. Acesso em: 1 mar. 2022.
- DE MAGISTRIS, L. et al. Alterations of the intestinal barrier in patients with autism spectrum disorders and in their first-degree relatives. **Journal of pediatric gastroenterology and nutrition**, v. 51, n. 4, p. 418–424, out. 2010. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20683204/>>. Acesso em: 27 mar. 2022.
- DIÉGUEZ-CASTILLO, C. et al. State of the Art in Exocrine Pancreatic Insufficiency. **Medicina (Kaunas, Lithuania)**, v. 56, n. 10, p. 1–10, 1 out. 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33036352/>>. Acesso em: 6 fev. 2022.
- DIMAGNO, M. J.; DIMAGNO, E. P. Chronic pancreatitis. **Current opinion in gastroenterology**, v. 28, n. 5, p. 523–531, set. 2012. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22782018/>>. Acesso em: 2 abr. 2022.

- DOMINGUEZ-MUÑOZ, J. E. Management of pancreatic exocrine insufficiency. **Current opinion in gastroenterology**, v. 35, n. 5, p. 455–459, 1 set. 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31219829/>>. Acesso em: 1 mar. 2022.
- DOMÍNGUEZ-MUÑOZ, J. E. Pancreatic enzyme therapy for pancreatic exocrine insufficiency. **Current gastroenterology reports**, v. 9, n. 2, p. 116–122, abr. 2007. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17418056/>>. Acesso em: 2 abr. 2022.
- DOSCHERHOLMEN, A.; HAGEN, P. S. A dual mechanism of vitamin B12 plasma absorption. **The Journal of clinical investigation**, v. 36, n. 11, p. 1551–1557, 1957. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13475493/>>. Acesso em: 12 abr. 2022.
- DUBOC, H. et al. Connecting dysbiosis, bile-acid dysmetabolism and gut inflammation in inflammatory bowel diseases. **Gut**, v. 62, n. 4, p. 531–539, 1 abr. 2013. Disponível em: <<https://gut.bmj.com/content/62/4/531>>. Acesso em: 22 abr. 2022.
- ENDRES, T. M.; KONSTAN, M. W. What Is Cystic Fibrosis? **JAMA**, v. 327, n. 2, p. 191, 11 jan. 2022. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35015036/>>. Acesso em: 3 abr. 2022.
- FINLEY, R.; RAID-SMITH, R.; WEESE, J. S. Human health implications of Salmonella-contaminated natural pet treats and raw pet food. **Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 42, n. 5, p. 686–691, 1 mar. 2006. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16447116/>>. Acesso em: 1 mar. 2022.
- FREEMAN, L. M. et al. Current knowledge about the risks and benefits of raw meat-based diets for dogs and cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 243, n. 11, p. 1549–1558, 1 dez. 2013. Disponível em: <<https://avmajournals.avma.org/view/journals/javma/243/11/javma.243.11.1549.xml>>. Acesso em: 1 mar. 2022.
- FRIAS, R. et al. Comparison of 51Chromium-labeled ethylenediamine tetra-acetic acid and iohexol as blood markers for intestinal permeability testing in Beagle dogs. **Veterinary Journal**, v. 192, n. 1, p. 123–125, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2011.04.024>>.
- FRULLONI, L. et al. Italian consensus guidelines for chronic pancreatitis. **Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver**, v. 42 Suppl 6, n. SUPPL. 6, 1 dez. 2010. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21078490/>>. Acesso em: 2 abr. 2022.
- FYFE, J. C. Feline intrinsic factor (IF) is pancreatic in origin and mediates ileal cobalamin (CBL) absorption. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, n. 7, p. 133, 1993.
- GERMAN, A. J. Exocrine Pancreatic Insufficiency in the Dog: Breed Associations, Nutritional Considerations, and Long-term Outcome. **Topics in Companion Animal Medicine**, v. 27, n. 3, p. 104–108, 2012a. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1053/j.tcam.2012.04.004>>.
- GERMAN, A. J. **Exocrine Pancreatic Insufficiency in the Dog: Breed Associations, Nutritional Considerations, and Long-term Outcome** **Topics in Companion Animal Medicine**, ago. 2012b. .
- GRÜTZNER, N. et al. Evaluation of serum cobalamin concentrations in dogs of 164 dog breeds (2006-2010). **Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc**, v. 24, n. 6, p. 1105–1114, nov. 2012. Disponível em:

- <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23019243/>>. Acesso em: 28 fev. 2022.
- GUARD, B. C. et al. Characterization of microbial dysbiosis and metabolomic changes in dogs with acute diarrhea. **PloS one**, v. 10, n. 5, 22 maio 2015. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26000959/>>. Acesso em: 22 abr. 2022.
- HALL, E. J. et al. A survey of the diagnosis and treatment of canine exocrine pancreatic insufficiency. **Journal of Small Animal Practice**, v. 32, n. 12, p. 613–619, 1 dez. 1991. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1748-5827.1991.tb00903.x>>. Acesso em: 11 jun. 2021.
- HALM, U. et al. A double-blind, randomized, multicentre, crossover study to prove equivalence of pancreatin minimicrospheres versus microspheres in exocrine pancreatic insufficiency. **Alimentary pharmacology & therapeutics**, v. 13, n. 7, p. 951–957, 1999. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10383531/>>. Acesso em: 1 mar. 2022.
- HAMMER, H. F. Pancreatic exocrine insufficiency: diagnostic evaluation and replacement therapy with pancreatic enzymes. **Digestive diseases (Basel, Switzerland)**, v. 28, n. 2, p. 339–343, set. 2010. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20814209/>>. Acesso em: 12 abr. 2022.
- HEILMANN, R. M.; STEINER, J. M. Clinical utility of currently available biomarkers in inflammatory enteropathies of dogs. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 32, n. 5, p. 1495–1508, 1 set. 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30222209/>>. Acesso em: 1 mar. 2022.
- HEYMAN, M. et al. Macromolecular transport in jejunal mucosa of children with severe malnutrition: a quantitative study. **Journal of pediatric gastroenterology and nutrition**, v. 3, n. 3, p. 357–363, 1984. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6737179/>>. Acesso em: 10 abr. 2022.
- HOLLANDER, D. et al. Increased intestinal permeability in patients with Crohn's disease and their relatives. A possible etiologic factor. **Annals of internal medicine**, v. 105, n. 6, p. 883–885, 1986. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3777713/>>. Acesso em: 27 mar. 2022.
- HUANG, W. et al. Exocrine Pancreatic Insufficiency Following Acute Pancreatitis: Systematic Review and Meta-Analysis. **Digestive diseases and sciences**, v. 64, n. 7, p. 1985–2005, 15 jul. 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31161524/>>. Acesso em: 28 fev. 2022.
- ISAIAH, A. et al. The fecal microbiome of dogs with exocrine pancreatic insufficiency. **Anaerobe**, v. 45, p. 50–58, 2017a.
- ISAIAH, A. et al. The fecal microbiome of dogs with exocrine pancreatic insufficiency. **Anaerobe**, v. 45, p. 50–58, jun. 2017b. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28223257>>. Acesso em: 31 out. 2019.
- JEFFERY, N. D. et al. The Association of Specific Constituents of the Fecal Microbiota with Immune-Mediated Brain Disease in Dogs. **PloS one**, v. 12, n. 1, 1 jan. 2017. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28125651/>>. Acesso em: 22 abr. 2022.
- JURIC, M. et al. Increased epithelial permeability is the primary cause for bicarbonate loss in inflamed murine colon. **Inflammatory bowel diseases**, v. 19, n. 5, p. 904–911, abr. 2013. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23502355/>>. Acesso em: 10 abr. 2022.
- KATHER, S. et al. Review of cobalamin status and disorders of cobalamin metabolism in dogs. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 34, n. 1, p. 13–28, 1 jan. 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31758868/>>. Acesso em: 28 fev. 2022.

- KELLER, J. Human pancreatic exocrine response to nutrients in health and disease. **Gut**, v. 54, n. suppl_6, p. 1–28, 1 jul. 2005. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15951527/>>. Acesso em: 6 fev. 2022.
- KHOSHBIN, K.; CAMILLERI, M. Effects of dietary components on intestinal permeability in health and disease. **American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology**, v. 319, n. 5, p. G589–G608, 3 nov. 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32902315/>>. Acesso em: 3 mar. 2022.
- KIELER, I. N. et al. Gut microbiota composition may relate to weight loss rate in obese pet dogs. **Veterinary Medicine and Science**, v. 3, n. 4, p. 252, 1 nov. 2017. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32902315/>>. Acesso em: 22 abr. 2022.
- KIM, H. Il et al. Oral vitamin B12 replacement: an effective treatment for vitamin B12 deficiency after total gastrectomy in gastric cancer patients. **Annals of surgical oncology**, v. 18, n. 13, p. 3711–3717, dez. 2011. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21556950/>>. Acesso em: 12 abr. 2022.
- KLENNER, S. et al. Estimation of intestinal permeability in healthy dogs using the contrast medium iohexol. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 38, n. 3, p. 353–360, 2009.
- KOBAYASHI, S. et al. Measurement of intestinal mucosal permeability in dogs with lymphocytic-plasmacytic enteritis. **The Journal of veterinary medical science**, v. 69, n. 7, p. 745–749, jul. 2007. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17675807/>>. Acesso em: 27 mar. 2022.
- KOOK, P. H.; HERBERGER, M. Daily oral cyanocobalamin supplementation in Beagles with hereditary cobalamin malabsorption (Imerslund-Gräsbeck syndrome) maintains normal clinical and cellular cobalamin status. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 33, n. 2, p. 751–757, 1 mar. 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30554416/>>. Acesso em: 1 mar. 2022.
- KUZMINSKI, A. M. et al. Effective Treatment of Cobalamin Deficiency With Oral Cobalamin. **Blood**, v. 92, n. 4, p. 1191–1198, 15 ago. 1998.
- LAFLAMME, D. Development and validation of a body condition score system for cats: A clinical tool. **Feline Practice**, v. 25, n. 5–6, p. 13–17, 1997.
- LAYER, P.; KELLER, J. **Pancreatic enzymes: Secretion and luminal nutrient digestion in health and disease** *Journal of Clinical Gastroenterology* *J Clin Gastroenterol*, , jan. 1999. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9916657/>>. Acesso em: 6 fev. 2022.
- LEY, D.; TURCK, D. Digestive outcomes in Cystic fibrosis. **Best practice & research. Clinical gastroenterology**, v. 56–57, p. 101788, fev. 2022. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35331400/>>. Acesso em: 3 abr. 2022.
- LINDAHL, I. L. Techniques and procedures in animal production. Methods employed in nutrition research. **Amer. Soc. Anim. Sci.**, n. New York, N.Y., p. 173–193, 1963.
- LINDKVIST, B. Diagnosis and treatment of pancreatic exocrine insufficiency. **World journal of gastroenterology**, v. 19, n. 42, p. 7258–7266, 14 nov. 2013. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24259956/>>. Acesso em: 28 fev. 2022.
- LÖHR, J. M. et al. Properties of different pancreatin preparations used in pancreatic exocrine insufficiency. **European journal of gastroenterology & hepatology**, v. 21, n. 9, p. 1024–1031, set. 2009. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19352190/>>. Acesso em: 1 mar. 2022.
- LUNN, P. G.; NORTHROP-CLEWES, C. A.; DOWNES, R. M. Intestinal permeability, mucosal injury, and growth faltering in Gambian infants. **The Lancet**, v. 338, n. 8772, p. 907–910, 12 out. 1991. Disponível em:

<<http://www.thelancet.com/article/014067369191772M/fulltext>>. Acesso em: 27 mar. 2022.

MACK, D. R. et al. Correlation of intestinal lactulose permeability with exocrine pancreatic dysfunction. **The Journal of pediatrics**, v. 120, n. 5, p. 696–701, 1992a. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1578303/>>. Acesso em: 27 mar. 2022.

MACK, D. R. et al. Correlation of intestinal lactulose permeability with exocrine pancreatic dysfunction. **The Journal of Pediatrics**, v. 120, n. 5, p. 696–701, 1 maio 1992b. Disponível em: <<http://www.jpeds.com/article/S0022347605802306/fulltext>>. Acesso em: 22 abr. 2022.

MAS, A. et al. A blinded randomised controlled trial to determine the effect of enteric coating on enzyme treatment for canine exocrine pancreatic efficiency. **BMC veterinary research**, v. 8, p. 127, 2012. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22839732/>>. Acesso em: 1 mar. 2022.

MATEL, J. L.; MILLA, C. E. Nutrition in cystic fibrosis. **Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 30, n. 5, p. 579–586, 16 set. 2009. Disponível em: <<http://www.thieme-connect.de/products/ejournals/html/10.1055/s-0029-1238916>>. Acesso em: 3 abr. 2022.

MICHEL, K. E. et al. Correlation of a feline muscle mass score with body composition determined by dual-energy X-ray absorptiometry. **British Journal of Nutrition**, v. 106, n. S1, p. S57–S59, 2011.

MICHIELAN, A.; D'INCÀ, R. Intestinal Permeability in Inflammatory Bowel Disease: Pathogenesis, Clinical Evaluation, and Therapy of Leaky Gut. **Mediators of inflammation**, v. 2015, 2015. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26582965/>>. Acesso em: 27 mar. 2022.

MÖSSNER, J.; KEIM, V. Pancreatic enzyme therapy. **Deutsches Arzteblatt international**, v. 108, n. 34–35, p. 578–582, 29 ago. 2010. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21904592/>>. Acesso em: 1 mar. 2022.

MURPHY, M. S. et al. Active and passive sugar absorption in pancreatic insufficiency. **Journal of pediatric gastroenterology and nutrition**, v. 8, n. 2, p. 189–194, 1989. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2496212/>>. Acesso em: 10 abr. 2022.

NISHIYAMA, H. et al. Supplementation of pancreatic digestive enzymes alters the composition of intestinal microbiota in mice. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 495, n. 1, p. 273–279, 1 jan. 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29106956/>>. Acesso em: 12 abr. 2022.

ODENWALD, M. A.; TURNER, J. R. Intestinal permeability defects: is it time to treat? **Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association**, v. 11, n. 9, p. 1075–1083, set. 2013. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23851019/>>. Acesso em: 26 mar. 2022.

OKUMURA, R.; TAKEDA, K. Roles of intestinal epithelial cells in the maintenance of gut homeostasis. **Experimental & molecular medicine**, v. 49, n. 5, 12 maio 2017. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28546564/>>. Acesso em: 26 mar. 2022.

PARAMBETH, J. C. et al. Randomized placebo controlled clinical trial of an enteric coated micro-pelleted formulation of a pancreatic enzyme supplement in dogs with exocrine pancreatic insufficiency. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 32, n. 5, p. 1591–1599, 1 set. 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31111111/>>. Acesso em: 11 jun. 2021.

- PATEL, D. et al. Understanding Cystic Fibrosis Comorbidities and Their Impact on Nutritional Management. **Nutrients**, v. 14, n. 5, p. 1028, 28 fev. 2022. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35268004/>>. Acesso em: 3 abr. 2022.
- PEDRINELLI, V. et al. Predictive equations of maintenance energy requirement for healthy and chronically ill adult dogs. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, p. jpn.13184, 22 out. 2019. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jpn.13184>>. Acesso em: 6 mar. 2021.
- PERBTANI, Y.; FORSMARK, C. E. Update on the diagnosis and management of exocrine pancreatic insufficiency [version 1; peer review: 2 approved]. **F1000Research**, v. 8, 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31824646/>>. Acesso em: 1 mar. 2022.
- PIDGEON, G. Effect of diet on exocrine pancreatic insufficiency in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 181, n. 3, p. 232–5, 1 ago. 1982. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6921199>>. Acesso em: 16 fev. 2020.
- PIETZNER, M. et al. Exocrine Pancreatic Function Modulates Plasma Metabolites Through Changes in Gut Microbiota Composition. **The Journal of clinical endocrinology and metabolism**, v. 106, n. 5, p. E2290–E2298, 1 maio 2021a. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33462612/>>. Acesso em: 6 fev. 2022.
- PIETZNER, M. et al. Exocrine Pancreatic Function Modulates Plasma Metabolites Through Changes in Gut Microbiota Composition. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 106, n. 5, p. e2290, 1 maio 2021b. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33462612/>>. Acesso em: 6 abr. 2022.
- PILLA, R.; SUCHODOLSKI, J. S. The Gut Microbiome of Dogs and Cats, and the Influence of Diet. **The Veterinary clinics of North America. Small animal practice**, v. 51, n. 3, p. 605–621, 1 maio 2021. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33653538/>>. Acesso em: 22 abr. 2022.
- PINNA, C. et al. Influence of dietary protein and fructooligosaccharides on fecal fermentative end-products, fecal bacterial populations and apparent total tract digestibility in dogs. **BMC Veterinary Research**, v. 14, n. 1, 20 mar. 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30559515/>>. Acesso em: 22 abr. 2022.
- PONGPRASOBCHAI, S. Maldigestion from pancreatic exocrine insufficiency. **Journal of gastroenterology and hepatology**, v. 28 Suppl 4, n. S4, p. 99–102, 2013. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24251713/>>. Acesso em: 30 mar. 2022.
- RENTAS, M. F. et al. Galactooligosaccharide and a prebiotic blend improve colonic health and immunity of adult dogs. **PloS one**, v. 15, n. 8, 1 ago. 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32857814/>>. Acesso em: 17 abr. 2022.
- RITZ, S. et al. Gut microbiome as a response marker for pancreatic enzyme replacement therapy in a porcine model of exocrine pancreas insufficiency. **Microbial cell factories**, v. 19, n. 1, 1 dez. 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33272255/>>. Acesso em: 1 mar. 2022.
- ROHR, M. W. et al. Negative Effects of a High-Fat Diet on Intestinal Permeability: A Review. **Advances in nutrition (Bethesda, Md.)**, v. 11, n. 1, p. 77–91, 1 jan. 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31268137/>>. Acesso em: 4 mar. 2022.
- RUAUX, C. G. **Cobalamin in companion animals: Diagnostic marker, deficiency states and therapeutic implications** *Veterinary Journal*, maio 2013a. .
- RUAUX, C. G. Cobalamin in companion animals: Diagnostic marker, deficiency states

and therapeutic implications. **The Veterinary Journal**, v. 196, n. 2, p. 145–152, 1 maio 2013b.

RUTGERS, H. C. et al. Intestinal permeability testing in dogs with diet-responsive intestinal disease. **The Journal of small animal practice**, v. 36, n. 7, p. 295–301, 1995. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7474959/>>. Acesso em: 3 mar. 2022.

RUTGERS, H. C. et al. Intestinal permeability and function in dogs with small intestinal bacterial overgrowth. **The Journal of small animal practice**, v. 37, n. 9, p. 428–434, 1996. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8887203/>>. Acesso em: 4 mar. 2022.

SANKARARAMAN, S.; SCHINDLER, T.; SFERRA, T. J. Management of Exocrine Pancreatic Insufficiency in Children. **Nutrition in Clinical Practice**, v. 34, p. S27–S42, out. 2019. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31535732>>. Acesso em: 2 out. 2019.

SCHEPIS, T. et al. Microbiota in Pancreatic Diseases: A Review of the Literature. **Journal of Clinical Medicine**, v. 10, n. 24, 1 dez. 2021. Disponível em: <<https://pmc/articles/PMC8704740/>>. Acesso em: 6 fev. 2022.

SHAPE, J. M.; SALA, M. A. Nutrition management in adults with cystic fibrosis. **Nutrition in clinical practice : official publication of the American Society for Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 37, n. 2, p. 256–264, 1 abr. 2022. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35118712/>>. Acesso em: 4 abr. 2022.

SHARPSTONE, D. et al. Small intestinal transit, absorption, and permeability in patients with AIDS with and without diarrhoea. **Gut**, v. 45, n. 1, p. 70, 1999. Disponível em: <<https://pmc/articles/PMC1727572/>>. Acesso em: 27 mar. 2022.

SHEN, L. et al. Tight Junction Pore and Leak Pathways: A Dynamic Duo. **Annual review of physiology**, v. 73, p. 283, 2011. Disponível em: <<https://pmc/articles/PMC4655434/>>. Acesso em: 27 mar. 2022.

SIMPSON, K. W.; MORTON, D. B.; BATT, R. M. Effect of exocrine pancreatic insufficiency on cobalamin absorption in dogs. **American journal of veterinary research**, v. 50, n. 8, p. 1233–1236, 1989. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2782706/>>. Acesso em: 12 abr. 2022.

SINGH, V. K. et al. Less common etiologies of exocrine pancreatic insufficiency. **World journal of gastroenterology**, v. 23, n. 39, p. 7059–7076, 21 out. 2017. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29093615/>>. Acesso em: 28 fev. 2022.

SOETART, N. et al. Serum cobalamin and folate as prognostic factors in canine exocrine pancreatic insufficiency: An observational cohort study of 299 dogs. **Veterinary Journal**, 2019a.

SOETART, N. et al. Serum cobalamin and folate as prognostic factors in canine exocrine pancreatic insufficiency: An observational cohort study of 299 dogs. **Veterinary Journal**, v. 243, p. 15–20, 2019b. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2018.11.003>>.

STALLINGS, V. A. et al. Evidence-based practice recommendations for nutrition-related management of children and adults with cystic fibrosis and pancreatic insufficiency: results of a systematic review. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 108, n. 5, p. 832–839, maio 2008a. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18442507/>>. Acesso em: 2 mar. 2022.

STALLINGS, V. A. et al. Evidence-based practice recommendations for nutrition-related management of children and adults with cystic fibrosis and pancreatic insufficiency: results of a systematic review. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 108, n. 5, p. 832–839, maio 2008b. Disponível em:

- <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18442507/>>. Acesso em: 3 abr. 2022.
- STEINER, J. M. Review of commonly used clinical pathology parameters for general gastrointestinal disease with emphasis on small animals. **Toxicologic pathology**, v. 42, n. 1, p. 189–194, jan. 2014. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24129757/>>. Acesso em: 1 mar. 2022.
- STREETER, E. M. et al. Intestinal permeability and absorption in dogs with traumatic injury. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 16, n. 6, p. 669–673, 2002.
- SUCHODOLSKI, J. S. Diagnosis and interpretation of intestinal dysbiosis in dogs and cats. **The Veterinary Journal**, v. 215, p. 30–37, 1 set. 2016.
- SUCHODOLSKI, J. S.; STEINER, J. M. Laboratory assessment of gastrointestinal function. **Clinical techniques in small animal practice**, v. 18, n. 4, p. 203–210, 2003. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14738200/>>. Acesso em: 27 fev. 2022.
- SUENAERT, P. et al. Anti-tumor necrosis factor treatment restores the gut barrier in Crohn's disease. **The American journal of gastroenterology**, v. 97, n. 8, p. 2000–2004, ago. 2002. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12190167/>>. Acesso em: 27 mar. 2022.
- SUZUKI, A. et al. Effect of bacterial or porcine lipase with low- or high-fat diets on nutrient absorption in pancreatic-insufficient dogs. **Gastroenterology**, v. 116, n. 2, p. 431–437, 1999. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9922325/>>. Acesso em: 2 mar. 2022.
- SUZUKI, T. Regulation of the intestinal barrier by nutrients: The role of tight junctions. **Animal Science Journal = Nihon Chikusan Gakkaiho**, v. 91, n. 1, 1 jan. 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34117240/>>. Acesso em: 11 abr. 2022.
- TOOULI, J. et al. Management of pancreatic exocrine insufficiency: Australasian Pancreatic Club recommendations. **The Medical journal of Australia**, v. 193, n. 8, p. 461–467, 18 out. 2010. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20955123/>>. Acesso em: 2 abr. 2022.
- TORESSON, L. et al. Oral Cobalamin Supplementation in Dogs with Chronic Enteropathies and Hypocobalaminemia. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 30, n. 1, p. 101–107, 2016.
- TORESSON, L. et al. Oral cobalamin supplementation in cats with hypocobalaminaemia: a retrospective study. **Journal of feline medicine and surgery**, v. 19, n. 12, p. 1302–1306, 1 dez. 2017. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28128683/>>. Acesso em: 12 abr. 2022.
- TORESSON, L. et al. Comparison of efficacy of oral and parenteral cobalamin supplementation in normalising low cobalamin concentrations in dogs: A randomised controlled study. **Veterinary journal (London, England : 1997)**, v. 232, p. 27–32, 1 fev. 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29428088/>>. Acesso em: 1 mar. 2022.
- TORESSON, L. et al. Effects of oral versus parenteral cobalamin supplementation on methylmalonic acid and homocysteine concentrations in dogs with chronic enteropathies and low cobalamin concentrations. **Veterinary journal (London, England : 1997)**, v. 243, p. 8–14, 1 jan. 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30606444/>>. Acesso em: 1 mar. 2022.
- TORESSON, L. et al. Effects of oral cobalamin supplementation on serum cobalamin concentrations in dogs with exocrine pancreatic insufficiency: A pilot study. **The Veterinary Journal**, v. 269, p. 105619, 1 mar. 2021.
- VAN ELBURG, R. M. et al. Intestinal permeability in exocrine pancreatic insufficiency due to cystic fibrosis or chronic pancreatitis. **Pediatric research**, v. 39, n. 6, p. 985–

- 991, 1996. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8725259/>>. Acesso em: 27 mar. 2022.
- VÁZQUEZ-BAEZA, Y. et al. Dog and human inflammatory bowel disease rely on overlapping yet distinct dysbiosis networks. **Nature Microbiology** 2016 1:12, v. 1, n. 12, p. 1–5, 3 out. 2016. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/nmicrobiol2016177>>. Acesso em: 22 abr. 2022.
- VILLAVERDE, C. Nutritional Management of Exocrine Pancreatic Diseases. In: FASCETTI, A. J.; DELANEY, S. J. (Ed.). **Applied Veterinary Clinical Nutrition**. 1. ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2012. p. 222–235.
- WATSON, P. J.; BUNCH, S. Pâncreas exócrino. In: NELSON, R. W.; COUTO, C. G. (Ed.). **Medicina Interna de Pequenos Animais**. 4. ed. Rio de Janeiro: Mosby Elsevier, 2010. p. 579–608.
- WATSON, P. J. Exocrine pancreatic insufficiency as an end stage of pancreatitis in four dogs. **The Journal of small animal practice**, v. 44, n. 7, p. 306–312, 2003. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12866928/>>. Acesso em: 28 fev. 2022.
- WESTERMARCK E, JUNTILA JT, W. M. Role of low dietary fat in the treatment of dogs with exocrine pancreatic insufficiency. **Am J Vet Res.**, v. 56(5), n. PMID: 7661454., p. 600–5, 1995.
- WESTERMARCK, E. Treatment of pancreatic degenerative atrophy with raw pancreas homogenate and various enzyme preparations. **Zentralblatt fur Veterinarmedizin. Reihe A**, v. 34, n. 10, p. 728–733, 1987. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3124395/>>. Acesso em: 1 mar. 2022.
- WESTERMARCK, E.; MYLLYS, V.; AHO, M. Effect of treatment on the jejunal and colonic bacterial flora of dogs with exocrine pancreatic insufficiency. **Pancreas**, v. 8, n. 5, p. 559–62, set. 1993. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8302792>>. Acesso em: 16 fev. 2020.
- WESTERMARCK, E.; SAARI, S. A. M.; WIBERG, M. E. Heritability of exocrine pancreatic insufficiency in German Shepherd dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 24, n. 2, p. 450–452, mar. 2010.
- WESTERMARCK, E.; WIBERG, M. Exocrine pancreatic insufficiency in dogs. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v. 33, n. 5, p. 1165–1179, 2003.
- WESTERMARCK, E.; WIBERG, M. Exocrine Pancreatic Insufficiency in the Dog: Historical Background , Diagnosis , and Treatment. **TCAM**, v. 27, n. 3, p. 96–103, 2012a. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1053/j.tcam.2012.05.002>>.
- WESTERMARCK, E.; WIBERG, M. Exocrine Pancreatic Insufficiency in the Dog: Historical Background, Diagnosis, and Treatment. **Topics in Companion Animal Medicine**, v. 27, n. 3, p. 96–103, 2012b.
- WESTERMARCK, E.; WIBERG, M. E. Effects of diet on clinical signs of exocrine pancreatic insufficiency in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 228, n. 2, p. 225–229, 15 jan. 2006.
- WHITE, R. et al. Randomized, controlled trial evaluating the effect of multi-strain probiotic on the mucosal microbiota in canine idiopathic inflammatory bowel disease. **Gut microbes**, v. 8, n. 5, p. 451–466, 3 set. 2017. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28678609/>>. Acesso em: 12 abr. 2022.
- WIBERG, M. E. **Pancreatic acinar atrophy in German shepherd dogs and rough-coated Collies. Etiopathogenesis, diagnosis and treatment. A review** *Veterinary Quarterly* Vet Q , 2004. .
- WIBERG, M. E.; LAUTALA, H. M.; WESTERMARCK, E. Response to long-term

- enzyme replacement treatment in dogs with exocrine pancreatic insufficiency. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 213, n. 1, p. 86–90, 1 jul. 1998. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9656030/>>. Acesso em: 17 jun. 2021.
- WIBERG, M. E.; NURMI, A. K.; WESTERMARCK, E. Serum Trypsinlike Immunoreactivity Measurement for the Diagnosis of Subclinical Exocrine Pancreatic Insufficiency. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 13, n. 5, p. 426–432, 1 set. 1999. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1939-1676.1999.tb01458.x>>. Acesso em: 28 fev. 2022.
- WIBERG, M. E.; SAARI, S. A. M.; WESTERMARCK, E. Exocrine pancreatic atrophy in German Shepherd Dogs and Rough-coated Collies: an end result of lymphocytic pancreatitis. **Veterinary pathology**, v. 36, n. 6, p. 530–541, 1999. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10568434/>>. Acesso em: 28 fev. 2022.
- WIBERG, M. E.; WESTERMARCK, E. Subclinical exocrine pancreatic insufficiency in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 220, n. 8, p. 1183–1187, 2002a.
- WIBERG, M. E.; WESTERMARCK, E. Subclinical exocrine pancreatic insufficiency in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 220, n. 8, p. 1183–1187, abr. 2002b. Disponível em: <<http://avmajournals.avma.org/doi/abs/10.2460/javma.2002.220.1183>>. Acesso em: 16 fev. 2020.
- WILLIAMS, D. . Exocrine pancreatic disease. In: ETTINGER SJ, F. E. (Ed.). **Veterinary Internal Medicine**. 5. ed. Philadelphia: PA, W. B. Saunders, 2000. p. 1345–1367.
- WILLIAMS, D. A.; BATT, R. M.; MCLEAN, L. Bacterial overgrowth in the duodenum of dogs with exocrine pancreatic insufficiency. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 191, n. 2, p. 201–6, 15 jul. 1987. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3610795>>. Acesso em: 16 fev. 2020.
- XENOULIS, P. G. et al. Feline Exocrine Pancreatic Insufficiency: A Retrospective Study of 150 Cases. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 30, n. 6, p. 1790–1797, 1 nov. 2016. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27641602/>>. Acesso em: 28 fev. 2022.
- YUKAWA, S. et al. Anti-microbial resistance of Salmonella isolates from raw meat-based dog food in Japan. **Veterinary medicine and science**, 2022. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35077028/>>. Acesso em: 1 mar. 2022.

ANEXOS**ANEXO A – Diário de anotações dos tutores no período de coleta total de fezes na residência**

Nome:	Prontuário:	Peso:	Enzimas Panc:
Alimento:	Quantidade alimento:	Data:	

COLETA TOTAL DE FEZES

1. Pesar e anotar a quantidade em gramas das duas refeições do animal nos dias de coleta.
2. Coletar e pesar fezes do animal durante os 4 dias de coleta.
3. Identificar os potes / saquinhos coletores com nome do animal.
4. Congelar fezes.
5. Preencher diário de pesagens do animal.
6. Não ofertar NENHUM tipo de alimento para o animal durante todo estudo.
7. Caso aconteça qualquer episódio fora do normal (fornecimento acidental de alimentos proibidos / mudança consistência fecal, anotar no campo observações)

1º DIA / / 2020

Atividade	Horário	Peso (balança)	Observação
Alimentação 1			
Alimentação 2			
Fezes 1 (congelar)			
Fezes 2 (congelar)			
Fezes 3 (congelar)			
Fezes 4 (congelar)			
Fezes 5 (congelar)			
Obs Geral:			

2º DIA / / 2020

Atividade	Horário	Peso (balança)	Observação
Alimentação 1			
Alimentação 2			
Fezes 1 (congelar)			
Fezes 2 (congelar)			
Fezes 3 (congelar)			
Fezes 4 (congelar)			
Fezes 5 (congelar)			
Obs Geral:			

3º DIA / / 2020

Atividade	Horário	Peso (balança)	Observação
Alimentação 1			
Alimentação 2			
Fezes 1 (congelar)			
Fezes 2 (congelar)			
Fezes 3 (congelar)			
Fezes 4 (congelar)			
Fezes 5 (congelar)			
Obs Geral:			

4º DIA / / 2020

Atividade	Horário	Peso (balança)	Observação
Alimentação 1			
Alimentação 2			
Fezes 1 (congelar)			
Fezes 2 (congelar)			
Fezes 3 (congelar)			
Fezes 4 (congelar)			
Fezes 5 (congelar)			
Obs Geral:			

ANEXO B – Bioquímicos dos animais do grupo IPE e Controle avaliados nos dois períodos experimentais

ID	Alimento	Albumina (g/dL)	ALT (mg/dL)	FA (mg/dL)	Uréia (mg/dL)	Creatinina (mg/dL)	Triglicérides (mg/dL)	Coolesterol (mg/dL)
1	Controle	2,9	44,1	98,6	33	0,97	71,6	188
1	Teste	2,4	77,2	144,2	22	0,77	133	225,3
2	Controle	3,7	66,3	82,5	31,5	0,77	98,6	212,9
2	Teste	2,3	78,3	132,2	19	1	65	212,9
3	Controle	2,9	39,8	120,5	38,5	0,74	88,6	140,9
3	Teste	3,6	66	112,6	28	0,88	145	189,2
4	Controle	2,4	79,3	144,2	33,7	0,96	155,5	197
4	Teste	3,2	29,3	88,3	30,4	0,98	49	212,8
5	Controle	3,6	65,4	130,2	27	0,84	133,2	204,2
5	Teste	3,4	49,3	95,6	38,8	0,81	57	185
6	Controle	3,2	77,2	132	31	1,12	143,2	133
6	Teste	2,4	78,8	49,5	27,6	0,88	132	208
7	Controle	2,3	33,2	143,1	28,2	0,8	44,3	189,1
7	Teste	2,6	66,6	82,3	21,2	0,97	59	132
8	Controle	3,4	39,9	129,6	32,1	0,93	66,3	125,5
8	Teste	2,8	64,2	97,2	29,8	1,1	85	129
9	Controle	3,2	68,2	132,1	33,9	0,72	143	189,2
9	Teste	3,8	78,5	89,6	32,1	0,83	133	174
10	Controle	2,4	78,1	148,9	22,1	0,94	122	110
10	Teste	3,7	52	82,3	38,9	0,84	145	207,8
1S	Controle	2,9	87	123,3	33,2	0,66	59	209
1S	Teste	3,4	65	112,3	31	0,67	123	126,9
2S	Controle	3,9	77,2	144,2	38,9	0,87	143	169,8
2S	Teste	2,6	80,2	132,2	25,8	0,78	85,2	209,9
3S	Controle	3,2	81,3	47,5	27,7	0,97	156	161,8
3S	Teste	3,2	45,3	89,3	24,6	0,89	96,5	164,5
4S	Controle	3,3	73	33,3	33,2	0,82	163	177,8
4S	Teste	3,9	32,2	65,9	31,9	0,94	87,2	138,8
5S	Controle	2,6	44,5	125,6	24,4	1,1	145	233,8
5S	Teste	2,7	46,8	46,3	29,3	0,85	49,9	207,5
6S	Controle	3,5	53	132,9	36,7	1,2	59	240,2
6S	Teste	2,6	63,2	65,8	22,8	1,1	133,2	185,9
7S	Controle	2,2	78	112,4	32,9	0,71	128,8	130,9
7S	Teste	3,1	77,2	82,4	21,2	0,78	115,2	221,8
8S	Controle	3,6	81,2	45,2	26,9	0,79	96,3	189,9
8S	Teste	3,6	49,6	49,9	33	0,78	145,6	129,8
9S	Controle	2,3	52	132,2	32,2	0,87	160	143
9S	Teste	3,7	65,2	95,8	25,2	0,93	128,8	134,5
10S	Controle	2,2	32,4	18,9	30,9	1,1	123	198
10S	Teste	3,8	43,8	78,8	31,5	0,97	85,5	200,8