



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA

## **Metabolismo da Glutamina em Caninos Sadios e Enfermos**

RECIFE

2012



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA

Telga Lucena Alves Craveiro de Almeida.

**Metabolismo da Glutamina em Caninos Sadios e Enfermos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência Veterinária.

**Orientador:**

Prof<sup>o</sup>. Dr<sup>o</sup>. Helio Cordeiro manso filho

**Co-orientadoras:**

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Eneida Willcox Rêgo

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Helena Emília Cavalcanti da  
Costa Cordeiro Manso

RECIFE

2012

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA**

**METABOLISMO DA GLUTAMINA EM CANINOS SADIOS E ENFERMOS**

Dissertação de Mestrado elaborada por  
**Telga Lucena Alves Craveiro de Almeida**  
Aprovada em ...../...../.....

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr<sup>o</sup> Hélio Cordeiro Manso Filho  
Departamento de Zootecnia/UFRPE

---

Dr<sup>a</sup> Silvia Robles Duarte  
Consultora Privada, São Paulo-SP

---

Prof<sup>a</sup>. Dra Helena Emília Cavalcanti da Costa Cordeiro Manso  
Departamento de Zootecnia/UFRPE

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Eneida Willcox Rêgo  
Departamento de Med. Veterinária/UFRPE

## AGRADECIMENTOS

Eis que chegou o momento de expressar sinceros agradecimentos a muitos e tantos adorados familiares e amigos, tanto aos ‘velhos’ e queridos quanto os novos que fiz durante essa caminhada, aos que se revelaram ao longo desse tempo. Sei que corro o risco de não dar conta desse ‘muitíssimo obrigado’ como é merecido, porque será difícil expressar o sentimento de gratidão a cada um que contribuiu direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

Este trabalho é fruto da amizade e carinho da minha família e amigos, e ainda do incentivo de todos aqueles que ao longo dos últimos meses me transmitiram conhecimentos, aconselharam, ouviram e criticaram com o único objetivo de melhorar.

Agradeço a Deus pelas oportunidades que me foram dadas na vida, principalmente por ter conhecido pessoas interessantes, mas também por ter vivido fases difíceis, que serviram de matérias-primas de meu aprendizado.

Aos meus pais Jorge e Telma, sem os quais não estaria aqui, por terem me fornecido condições para me tornar a pessoa que sou. Aos meus irmãos Jorfred, Georfred e Telminha pelo apoio dado.

Aos familiares do Rio de Janeiro: Beta e Gilberto (tios), Aliny, Flavio, Jr e Buzuzu (Primos), Minha Avó, Cacilda, e ao meu avô, Beto (*in memoriam*), por acreditarem em mim e me apoiarem sempre.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco, que me proporcionou a oportunidade de cursar graduação em curso que sempre sonhei em fazer, pela oportunidade do curso de Pós-graduação em Residência de Patologia Clínica Veterinária, e pela conclusão de mais uma etapa, o Mestrado em Ciência Veterinária. Enfim, por ser Médica Veterinária, especialista em Patologia Clínica e agora MESTRE.

À FACEPE, pela minha bolsa, e à **Ajinomoto do Brail**, pelo apoio financeiro.

Aos amigos Jr, Elaine, Daniella Rodrigues, Ana Luisa, Paulo, Ana Clara, Anderson, Honorato, Talga (prima e madrinha), Gina e Stephânia por estarem presentes, ajudando e incentivando de alguma forma.

A Mércia, por ser mais que uma amiga, uma irmã. A Joyci Torre de Paula, obrigada por levar sempre a culpa, sem você eu não teria terminado. A Marília Bonelli pelo inglês, apoio, incentivo, ajuda e pela amizade.

A Simone, pelas correções, por me apoiar sempre, e, principalmente, pelas palavras de incentivo quando a esperança havia ido embora. Por se fazer presente nas horas em que eu mais precisei. Aos Momois, pelo incentivo e confiança.

Ao meu orientador Hélio Manso, que apesar de chato, é gente boa. Pela oportunidade me dada, pela confiança depositada e pelos ensinamentos passados.

A minha Co-Orientadora, a minha “orientadora” de sempre, Eneida Willcox, por ser mais que uma orientadora, minha “MÃE”, por sempre conseguir o meu melhor. Enfim, um exemplo de responsabilidade, competência e dedicação.

A minha co-orientadora Helena Emilia, pela colaboração na elaboração deste trabalho.

Aos estagiários, Cristiano, Scheilla, Melina, Armele, Raquel e Orrana e, em especial, Lidiana e Juliana, vocês me ajudaram muito em todos os sentidos.

Aos funcionários do Hospital, em especial Mirella, Breno Menezes, Virginia, Diana, Gustavo e Jesualdo, pois sem eles não teria metade dos casos aqui relatados. A Leo, Família ou ainda Claudécio, por ser essa pessoal especial e que sempre procura ajudar os outros. Espinhará, por quem tenho grande admiração, e Clodomir que, apesar de toda sua loucura, é gente boa.

Aos meus professores da graduação e pós-graduação, em especial, Eneida, Hélio, Helena Emilia, Ana Paula, Marco Bocão, Miriam, Cristina, a quem tenho grande admiração.

À Veterinária Rebeca Menelau, por ter cedido os animais para esta pesquisa, por sempre me ajudar quando precisei.

“Não há diferença fundamental entre o Homem e os animais nas suas faculdades mentais (...). Os animais, como o Homem, demonstram sentir prazer, dor, felicidade e sofrimento.” (Charles Darwin).

## RESUMO

### Metabolismo da Glutamina em Caninos Sadios e Enfermos

A glutamina (GLN) é produzida por diferentes tecidos através da enzima glutamina sintetase (GS), sendo que o tecido muscular, devido à sua extensão, é o maior produtor desse aminoácido, seguido pelos pulmões, fígado, e placenta. Os enterócitos e as células do sistema imune são os maiores consumidores. Durante as infecções graves e enfermidades que produzam catabolismo há uma degradação elevada da GLN que pode ser compensada, até determinado ponto, pelo aumento da expressão da GS. Para se compreender melhor o metabolismo da GLN nos caninos, sadios ou não, foi desenvolvido um experimento que objetivou determinar a [GLN] e outros metabólitos sanguíneos associados ao metabolismo das proteínas em caninos sadios, doadores e não doadores de sangue, naqueles com câncer ou outras enfermidades graves. Foram colhidas amostras de sangue de cento e trinta e três (133) animais, divididos em quatro grupos: sadios, com câncer, doença infecciosa grave, e doadores de sangue. Nas amostras de sangue determinaram-se [Glutamina], [Glutamato], [Uréia], [Creatinina], [Proteína plasmática total] (PPT), [Glicose], [Fibrinogênio] e hematócrito. Também foi determinado o índice de escore corporal (IEC). Os resultados foram analisados pelo ANOVA, com significância de 5%, e pelo teste de Tukey com pos hoc, com  $P < 0,05$ . Os resultados indicaram que não houve diferença estatística entre o IEC no grupo com câncer quando comparado ao grupo dos sadios ( $P > 0,05$ ), mas houve diferença quando estes foram comparados aos grupos doadores de sangue e os com doenças infecciosas ( $P < 0,05$ ), sendo que estes últimos apresentavam IEC mais baixos. As [GLN] e [GLN+GLU] foram significativamente mais baixas que nos animais sadios ( $P < 0,05$ ), sendo que o grupo com câncer, grupo com doenças infecciosas graves e o grupo de doadores apresentaram reduções de aproximadamente 73%, 88% e 82%, respectivamente, na [GLN]. Observou-se uma elevação significativa na [Creatinina] nos grupos doadores e com doenças infecciosas graves quando comparados aos animais sadios ( $P < 0,05$ ). Não ocorreram diferenças nas [Ureia], [Fibrinogênio] e [Glicose] entre os grupos ( $P > 0,05$ ). A [PPT] foi mais elevada no grupo com câncer ( $P < 0,05$ ) e o hematócrito no grupo doadores ( $P < 0,05$ ). Conclui-se, então, que nos grupos de animais enfermos e doadores de sangue, a degradação da GLN é elevada, o que pode comprometer a disponibilidade desse nutriente para os tecidos consumidores durante a evolução das enfermidades e pode dificultar a recuperação. O estabelecimento de um tratamento higiênico-dietético com a suplementação de GLN poderá ser um importante suporte nutricional para os enfermos ou doadores de sangue.

**Palavras chave:** Cancer, Aminoácido, Glicose, Caquexia.

## **ABSTRACT**

Glutamine metabolism in healthy and sick dogs

Glutamine (GLN) is produced in different tissues through the enzyme glutamine synthetase (GS). Muscular tissue, due to its extensiveness, is the largest producer of this amino acid, followed by lungs, liver and placenta. Enterocytes and immune system cells are the largest consumers. During severe infections and diseases that produce catabolism, there is an elevated breakdown of GLN, which can be compensated, up to a certain point, by an increase in GS expression. To better a understanding of GLN metabolism in dogs, whether healthy or not, we envisioned this experiment which had the objective of determining the [GLN] and other blood metabolites associated with protein metabolism in healthy dogs, blood donors, with cancer or with severe diseases. Blood samples were collected from 133 animals, divided into four groups: healthy, with cancer, severe infectious disease, and blood donors. [Glutamine], [Glutamate], [Urea], [Creatinine], [Total Plasma Protein] (TPP), [Glucose], [Fibrinogen] and hematocrit were determined in each sample. The body score index (BSI) was also determined. The results were analyzed using ANOVA, with a significance level of  $P < 0,05$ , and Tukey's test with post hoc, with  $P < 0,05$ . The results indicate thAT was no statistical difference in BSI between the group with cancer and the healthy group ( $P < 0,05$ ), but there was a difference when these were compared to the blood donor and infectious disease groups ( $P > 0,05$ ), where the latter had lower IEC. [GLN] and [GLN+GLU] were significantly lower than in the healthy animals ( $P < 0,05$ ), where the groups with cancer, infectious diseases and blood donors had a reduction of ~82%, ~73% e ~88%, respectively in their [GLN]. We observed a significant elevation in [Creatinine] in the blood donors and infectious diseases groups when compared to the healthy animals ( $P < 0,05$ ). There were no differences in [Urea], [Fibrinogen] and [Glucose] between groups ( $P > 0,05$ ). The [TPP] had higher values in the group with cancer ( $P < 0,05$ ) and the hematocrit in the group with blood donors ( $P < 0,05$ ). We conclude that, in the groups with sick animals and blood donors, there is an elevated degradation of GLN, which might compromise its availability for the consumer tissues during the evolution of an illness, which in turn could make for a difficult recovery. Establishing a hygienic and dietary management through GLN supplementation can be an important nutritional support for sick animals or blood donors.

**Keywords:** Cancer, Amino acids, Glucose, Cachexia.

## LISTA DE ILUSTRAÇÃO

	Pág.
Anexo 1. Figura 1. Metabolismo do músculo no estado pós-prandial e durante exercício físico.	56
Anexo 2. Figura 2. Metabolismo da glutamina e glicose sugerido para as células neoplásicas.	57
Anexo 3. Figura 3. Índice de escore corporal para caninos.	58

## LISTA DE TABELAS

		Pág.
Tabela 1	Comparação entre concentrações de Glutamina, Glutamato, Glutamina + Glutamato em caninos sadios, caninos doadores de sangue, animais com neoplasia, e animais com grave enfermidade infecciosa.	32
Tabela 2	Resultados das concentrações de Proteína plasmática total, fibrinogênio, ureia e creatinina em caninos sadios, caninos doadores de sangue, animais com neoplasia, e animais com grave enfermidade infecciosa.	33
Tabela 3	Resultados do Hematócrito, da concentração de glicose e do índice de escore corporal em caninos sadios, caninos doadores de sangue, animais com neoplasia, e animais com grave enfermidade infecciosa.	34

## LISTAS DE QUADROS

		Pág.
Quadro 1	Localização e resultado dos exames citológicos nos animais do grupo 3 - animais enfermos com neoplasia.	60
Quadro 2	Ocorrência das neoplasias e resultado dos exames citológicos nos animais do grupo 3 - animais enfermos com neoplasia.	61
Quadro 3	Hipótese diagnóstica dos animais do grupo 4 - animais enfermos com doença infecciosa grave.	62
Quadro 4	Incidências das doenças infecciosas dos animais do grupo 4 - animais enfermos com doença infecciosa grave.	63

## LISTA DE ABREVIATURAS

AA	Aminoácido
BIOPA	Laboratório de Biologia Molecular Aplicada à Produção Animal
Cp	Ceruloplastina
DNA	Ácido desoxirribonucléico
EDTA-K3	Etilenodiaminotetra-acético tripotássico
GLN	Glutamina
GLU	Glutamato
GS	Glutamina sintetase
Hp	Haptoglobulina
IEC	Índice de Escore Corporal
PAS	Proteína Amilóide Sérica
PCR	Proteína C reativa
PLM	Proteína Ligante de Manose
PPT	Proteína Plasmática Total
TCA	Ácido Tricarboxílico
THF $\alpha$	Fator de Necrose Tumoral
UFRPE	Universidade Federal Rural de Pernambuco

## LISTA DE SÍMBOLOS

~	Aproximadamente
CO <sub>2</sub>	Dióxido de carbono
H <sub>2</sub> O	Água
mmol/mL	Milimol por mililitro
NH <sub>3</sub>	Amônia
°C	Graus Celsius
[]	Concentração
+	Mais

## SUMÁRIO

	Pág.
1. INTRODUÇÃO	14
1.1 Justificativa	15
2. OBJETIVOS	16
2.1 Objetivo Geral	17
2.2 Objetivos específicos	17
3. REVISÃO DE LITERATURA	18
3.1 Metabolismo da Glutamina (GLN) e Glutamato (GLU) em animais sadios e enfermos	18
3.2 Neoplasias e sua ação sobre o metabolismo animal	20
3.3 Doenças infecciosas associadas ao estado catabólico e seus efeitos sobre o metabolismo dos animais	23
4. MATERIAL E MÉTODOS	27
4.1 Local da pesquisa e animais experimentais	27
4.2 Coleta de material	28
4.3 Processamento das amostras	28
4.3.1 Hematócrito	28
4.3.2 Dosagem de fibrinogênio	28
4.3.3 Dosagem de Proteína Plasmática Total (PPT)	29
4.3.4 Bioquímica	29
4.3.5 Glutamina e Glutamato	29
4.3.6 Índice de Escore Corporal (IEC)	29
4.4 Análise estatística	30
5. RESULTADOS	31
6. DISCUSSÃO	35
6.1 Variação na concentração da glutamina e glutamato nos grupos estudados	35
6.2 Variação dos marcadores do metabolismo das proteínas nos grupos estudados (uréia, creatinina, PPT, FIB)	39
6.3 Variação da concentração da glicose, da percentagem do hematócrito e do IEC nos grupos estudados.	41

7.	CONCLUSÕES	44
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45

## INTRODUÇÃO

Pela forte relação entre nutrição e imunidade, tem-se observado o uso cada vez mais frequente de nutrientes específicos visando ao reparo e à conservação da resposta imune. A administração de alguns nutrientes em doses superiores às necessidades alimentares diárias pode prevenir carências orgânicas e atuar como agente terapêutico. Entre os nutrientes que se enquadram nessa classificação estão: arginina, ácidos graxos ômega-3, glutamina, nucleotídeos, micronutrientes e vitaminas antioxidantes. Devido ao efeito que causam, esses nutrientes são comumente chamados pelos termos: imunonutrição, nutrição farmacológica e nutrição terapêutica (BARBUL et al, 1990; FIGUEIREDO, 2009).

Existe uma correlação entre doença, nutrição e imunidade. Uma doença primária leva ao aumento do catabolismo e das necessidades nutricionais. Sendo assim, esta condição é geralmente acompanhada pela anorexia. O conjunto destes fatores leva ao consumo acelerado, elevando a perda das reservas nutricionais do organismo, resultando, assim, na desnutrição (TENNANT, 1996).

A essencialidade nutricional de um composto químico se refere à incapacidade do organismo de sintetizá-lo em quantidades suficientes para atender uma determinada função fisiológica indispensável. Muitas substâncias consideradas nutricionalmente não essenciais também participam das funções fisiológicas vitais, porém podem ser sintetizadas em taxas suficientemente rápidas para atender a demanda, a partir de precursores prontamente disponíveis (CURI, 2000).

A glutamina (GLN) é um aminoácido não essencial, regularmente produzido no organismo animal em condições normais de saúde, sendo esse o mais abundante no corpo dos animais, é armazenado em grande parte, cerca de 60%, no tecido muscular (STIPANUK e WATFORD, 2006). Também é o aminoácido em maior quantidade no sangue (70-80%). Em determinadas condições, que vão desde a lactação até o câncer, a GLN é considerada condicionalmente essencial, pois a produção corporal não atende às necessidades do animal. Por este motivo, tem-se estudado seu metabolismo, tanto em condições fisiológicas quanto patológicas, em várias espécies animais (ROUDEBUSH et al., 2004; MACEDO et al, 2008).

A GLN é produzida por diferentes tecidos através da enzima glutamina sintetase (GS), sendo que o tecido muscular, devido ao seu tamanho, é o maior produtor desse aminoácido, seguido pelos pulmões, fígado, e placenta. Os enterócitos e as células do sistema imune

(glóbulos brancos e macrófagos) são os maiores consumidores (MARCHINI et al., 1999). O corpo animal produz endogenamente esse AA, entretanto, toda ou quase toda GLN utilizada pelos enterócitos é oriunda da alimentação e não chega à corrente sanguínea (STIPANUK e WATFORD, 2006). Algumas enfermidades modificam a concentração de AA no sangue e também produzem alterações no índice de escore corporal, que podem predispor o animal ao aparecimento de outras enfermidades metabólicas, dificultando a recuperação durante o tratamento (WEETH et al., 2007).

Durante as infecções graves e enfermidades que produzam catabolismo (Por exemplo o câncer) há um consumo elevado da GLN, que pode ser compensado por um determinado período com o aumento da expressão da GS e com isso produção e liberação da GLN muscular (WAGENMAKERS, 1998a). Essa compensação provavelmente modifica o escore corporal tanto no sentido de perda de massa muscular quanto no sentido de aumento da massa de gordura (WEETH et al., 2007). Essa perda de massa muscular é bastante visível nos pacientes com câncer, que têm sua recuperação retardada após o tratamento devido ao grave catabolismo que ocorre. Assim sendo, o conhecimento das possíveis variações plasmáticas da GLN, associado a outras dosagens hematológicas, pode facilitar o estabelecimento de programas terapêuticos e de nutrição clínica que favoreçam à recuperação dos animais com patologias graves (ROUDEBUSH et al., 2004; OGILVIE et. al, 1998).

A glutamina é essencial na regeneração do tecido lesado (SMITH e WILLMORE, 1990), devido à sua utilização na síntese de purinas e pirimidinas (LOBLEY, et. al 2001), utilizada como fonte de energia na síntese de ATP (BULUS, et. al, 1989). Por isso, torna-se importante o conhecimento das possíveis variações na [GLN] e [GLU] em caninos. Espera-se que animais enfermos ou com perda de sangue possam apresentar redução na concentração da glutamina plasmática sanguínea, quando comparados aos sadios.

## **1.1 Justificativa**

Doenças infecciosas ou neoplásicas aumentam o consumo orgânico da glutamina, modificando a classificação deste aminoácido de não essencial para condicionalmente essencial. Esse aumento ocorre devido às funções desempenhadas pela GLN especialmente em células de replicação rápida como as do sistema imunológico e enterócitos, sendo utilizada como substrato energético. Desta forma, a dosagem de GLN torna-se necessária quando os animais apresentam insulto catabólico como trauma, neoplasias ou infecções graves, onde

existe redução das reservas desse AA em diferentes tecidos, sendo mais importante no músculo e no sangue.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.2 Objetivo Geral**

Objetivou-se caracterizar as possíveis variações na concentração de glutamina e glutamato de cães com enfermidades que produzam estado catabólico e outros marcadores do metabolismo das proteínas nos caninos.

### **2.3 Objetivos específicos**

Obejtivou-se mensurar as concentrações de glutamina, glutamato, glutamina + glutamato, determinar o valor de Hematócrito, quantificar a concentração dos valores de uréia e creatinina, a concentração de fibrinogênio, índice de escore corporal, determinar a concentração de proteína plasmática e a concentração de glicose sérica dos animais estudados.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Metabolismo da Glutamina (GLN) e Glutamato (GLU) em animais sadios e enfermos

A glutamina é o aminoácido livre mais abundante no plasma e no tecido muscular, ao mesmo tempo em que apresenta diversas funções importantes no organismo, o que reforça seu papel relevante tanto em estados normais como fisiopatológicos (ROGERO et al., 2004). Este aminoácido é utilizado em altas taxas por células com elevado *turnover*, como enterócitos e leucócitos, para fornecer energia e favorecer a biossíntese de nucleotídeos, além de atuar tanto no anabolismo protéico, quanto na promoção do processo de adaptação e crescimento de tecidos altamente especializados (NEU et al., 2002).

Dentre os órgãos envolvidos na síntese de glutamina, incluem-se o músculo esquelético, pulmões, fígado, cérebro e o tecido adiposo, os quais contêm atividade da enzima glutamina sintetase, que catalisa a conversão de glutamina a partir de amônia e glutamato, na presença de ATP. Todavia, o tecido muscular, por ser o de maior volume é o que apresenta a maior significância na produção da GLN sob diferentes situações (WAGENMAKERS et. al, 1998a), como representado na figura 1. Por outro lado, tecidos que são primariamente consumidores de glutamina, como as células da mucosa intestinal, leucócitos e células do túbulo renal, contêm elevada atividade da enzima glutaminase, responsável pela hidrólise da glutamina e sua conversão em glutamato e amônia (WASH et al., 1998). Sob certas condições, tal como reduzido aporte de carboidratos, o fígado pode tornar-se um sítio consumidor de glutamina (ROGERO, et. al, 2000; ROGERO et al., 2006).

As concentrações plasmática e tecidual de glutamina se apresentarão diminuídas em situações clínicas e catabólicas, tais como: traumas, queimaduras, sepses, pós-operatório, diabetes não-controlado e após exercício exaustivo (PARRY-BILLINGS et al., 1989). É essencial na regeneração do tecido lesado (SMTIH e WILLMORE, 1990), devido à sua utilização na síntese de purinas e pirimidinas (LOBLEY, et. al, 2001), como fonte de energia na síntese de ATP (BULUS, et. al, 1989) e na gliconeogênese, aumentando o consumo de glutamina na mucosa intestinal (FREITAS e PENA, 2006). Nas neoplasias, a GLN juntamente com a glicose, são os dois mais importantes biomarcadores utilizados pelas células neoplásticas participando em diferentes funções para o seu crescimento e manutenção

dessas células (SOUBA, 1993; DeBERARDINIS et al., 2008; DeBERARDINIS e CHENG, 2010), conforme visto na figura 2.

Em alguns processos infecciosos, a degradação de proteína pode se tornar elevada, condição esta em que a liberação de glutamina excede sua síntese no músculo esquelético, priorizando a manutenção da saúde do animal, resultando na redução da concentração intracelular de glutamina (FREITAS e PENA, 2006). Essas situações levaram à modificação da classificação da glutamina de aminoácido não essencial ou dispensável para aminoácido condicionalmente essencial ou condicionalmente indispensável (SMITH, et. al, 1990).

A glutamina, pode atuar como regulador metabólico para aumentar a síntese de proteína e reduzir o catabolismo proteico se suplementada na dieta, mantendo uma taxa normal de deposição no músculo esquelético (YI, et. al, 2005), passando assim a ser considerado um aminoácido condicionalmente essencial, quando apresenta alguma enfermidade e o consumo superar sua síntese (BOELEN, et. al, 2004).

Grande parte dos estudos sobre o metabolismo da glutamina está associada à acidose metabólica de origem renal, ao desenvolvimento dos enterócitos e ao uso da suplementação da glutamina em animais com enfermidades hepáticas, câncer, cicatrização e atrofia muscular (OLSON, 2006), em caninos e felinos, assim como em outras espécies domésticas. Diversos estudos com esses animais têm demonstrado que a glutamina melhora a função da barreira intestinal, diminuindo a permeabilidade e aumentando a cicatrização da mucosa (LI et al., 1994).

A glutamina é convertida no momento em que entra no ciclo de Krebs, originando o malato, e no citosol, ocorre a produção do piruvato e NADPH a partir do malato, sendo o NADH importante nas reações de produção de radicais livres (NEWSHOLME, 2001).

O catabolismo da glutamina é regulado pela glutaminase dependente do fosfato (glutaminase I), localizada na mitocôndria, onde catalisa a hidrólise da glutamina para formar glutamato e amônia ( $\text{l-glutamina} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{l-glutamato} + \text{NH}_3$ ). A glutamina também sofre transaminação no fígado via glutamina transaminase ( $\alpha\text{-cetoacido} + \text{L-glutamina} \leftrightarrow \text{Aminoácido} + \text{l-glutamato}$ ). Através da glutamina sintetase, o glutamato é convertido em glutamina, como representado pela equação:  $\text{Glutamato} + \text{NH}_3 + \text{ATP} \leftrightarrow \text{Glutamina} + \text{ADP} + \text{Pi}$  (COLLEONE, et. al., 2000).

O glutamato é um aminoácido não essencial, encontrado em abundância na natureza. Ele é um componente natural presente em praticamente todos os alimentos que contêm

proteínas, como carnes, peixes, leite e muitos vegetais (REEDS et al., 2000). Ele é produzido a partir da transaminação do  $\alpha$ -cetoglutarato, originando metabólitos como o piruvato ou o oxalacetato, que participam em vias metabólicas como a gliconeogênese, a glicólise ou o ciclo dos ácidos tricarboxílicos. O glutamato ingerido é absorvido rapidamente no intestino, tendo 50% de sua concentração metabolizada em  $\text{CO}_2$ . Alguns estudos verificaram que esta metabolização do glutamato é o maior aporte na produção de energia usada pelo intestino (REEDS et al., 2000).

AKIBA et al. (2003) verificaram que o glutamato protege a mucosa gástrica contra a ação de micro-organismos, como o *Helicobacter pylori*, devido aos estímulos que promovem a liberação do muco protetor, reforçando a defesa da mucosa gástrica. Recentemente, foi confirmada a presença de receptores específicos para o glutamato na língua, estômago e intestino (MARUYAMA et al., 2006). Toyomasu et al. (2010) observaram que o glutamato monossódico estimula a motilidade intestinal e acelera o esvaziamento gástrico em cães, tornando-o benéfico para a digestão de alimentos proteicos.

### **3.2. Neoplasias e sua ação sobre o metabolismo animal**

A incidência das neoplasias em animais de companhia tem crescido consideravelmente. Este aumento ocorre devido a várias razões, sendo a principal a maior longevidade destes animais (WITHROW, 2001). Mesmo assim, existem poucos estudos epidemiológicos sobre a incidência de câncer em animais no Brasil. Withrow e Macewen (2007) relatam que 45% dos cães com mais de 10 anos e 32% dos gatos, independentemente da idade, morrem de câncer todos os anos. Observaram ainda que 20% dos cães com algum tipo de neoplasia apresentam o quadro de caquexia paraneoplásica. Essa caquexia faz parte do processo metabólico que se desenvolve no corpo do animal que aloja o tumor.

Os tumores são entidades metabólicas que funcionam como órgãos diferenciados, que se desenvolvem consumindo os nutrientes presentes na corrente sanguínea e secretam subprodutos que podem ser utilizados em outras partes do corpo do animal portador da neoplasia (DeBERARDINIS e CHENG, 2010). Basicamente, as neoplasias resultam na acumulação de mutações que desregulam o crescimento celular, os pontos de controle desse crescimento e a morte celular, além de promover condições no microambiente que favorecem o seu desenvolvimento (JIN e WHITE, 2007). Sendo assim, as células tumorais apresentam

um comportamento autônomo quando comparados com as células normais do corpo do animal, consumindo nutrientes rapidamente, principalmente glicose e glutamina (DeBERARDINIS et al., 2009),<sup>9</sup> conforme esquema da figura 2.

Uma importante parte do metabolismo tumoral foi descrito por Otto Warburg nos anos 50 do século passado, e demonstrou que as células neoplásicas consomem rapidamente a glicose, convertendo grande parte em lactato, o que é conhecido como efeito Warburg. Entretanto, mais recentemente, o metabolismo tumoral foi melhor descrito, demonstrando que a glicólise aeróbica, presente nos tumores, é apenas um dos componentes do metabolismo energético tumoral (DeBERARDINIS et al., 2009).

A célula neoplásica utiliza preferencialmente a glicose como substrato energético, e produz lactato e alanina (BRAHIMI-HORN, 2007; GUPPY, et al., 2002). Em contrapartida, Bertevello e Seelaender (2001) descrevem que os níveis plasmáticos de glicose em pacientes portadores de neoplasias podem não se apresentarem baixos em função do aumento na gliconeogênese. Já Withrow e Macwen (2007) afirmam que a hipoglicemia pode ocorrer em cães quando estes apresentam determinados tipos de tumores como os de célula B, melanoma, hepatoma, carcinoma hepatocelular, hemangiosarcoma e adenocarcinoma unilateral nos rins, sendo mais comum nos insulinomas.

Outro importante nutriente envolvido no metabolismo dos tumores é a glutamina, que atua como componente anaplerótico, e NADPH necessários para o desenvolvimento das células neoplásicas entre outras funções (DeBERARDINIS et al., 2008; DeBERARDINIS e CHENG, 2010; MARTINS, 2003). Contudo, deve-se observar que o mecanismo regulador do uso da glutamina ou da glicose pelas células tumorais pode ser controlado por processos de "signaling" independentes, presentes dentro das mesmas células (DeBERARDINIS e CHENG, 2010).

O processo pelo qual a glutamina é utilizada pela célula tumoral é descrita como glutaminólise (DeBerardinis et al., 2008). Esse mecanismo está associado à elevada produção de alanina e lactato, que podem ser utilizados na gliconeogênese, mas também podem suprir a necessidade de compostos para produção de citrato, que irá participar do TCA e com isso produzir ácidos graxos, e para a síntese de nucleotídeos e outras proteínas (DeBERARDINIS et al., 2008; WISE e THOMPSON, 2010). Ainda é importante ressaltar que as células tumorais presentes em diferentes neoplasias, como as de pâncreas e leucemia mielogênica, não sobrevivem em ambientes sem a presença de glutamina (WISE e THOMPSON, 2010),

que é necessária para diferentes fases do "signaling" nas células cancerígenas (DeBERARDINIS et al., 2007). Também tem sido observado que em pacientes com câncer pode ocorrer uma hipoglutaminemia, que tem como causas a própria enfermidade, como também os efeitos catabólicos da terapia anti-neoplásica (SOUBA, 1993; WISE E THOMPSON, 2010).

A utilização da glutamina ocorre dentro da mitocôndria do tumor (MEDINA, 2001). Martins (2003) verificou que a concentração de glutamina é inversamente proporcional ao crescimento da neoplasia. Assim baixa concentração é atribuída em parte ao aumento da atividade da enzima glutaminase e uma diminuição da enzima glutamina sintetase. (SZELIGA e OBARA-MICHLEWSKA, 2009). Segundo Goldin et. al, (1996) e Medina (2001), a glutamina é essencial para o crescimento do tumor, servindo como fonte de energia direta para os tecidos neoplásicos (SZEILIGA e OBARA-MICHLEWSKA, 2009), produzindo mudança marcante no metabolismo da glutamina (GOLDIN et. al, 1996; MEDINA, 2001). Essa alteração ocorre de tal maneira que o metabolismo do nitrogênio do animal é acomodado às exigências avançadas de glutamina pelo tumor (MEDINA, 2001).

A vascularização é um fator limitante para o metabolismo da GLN que, para sua oxidação, depende fundamentalmente do aporte de oxigênio para os tecidos. O tecido tumoral, quando bastante vascularizado, utiliza glutamina ativamente. A demanda desse AA pelo tecido tumoral compete com a dos outros tecidos que também utilizam o metabólito. De modo geral, a demanda de glutamina pelos leucócitos é ainda maior, pois o crescimento neoplásico deve estimular a função imunológica, com aumento da produção de citocina. Com isso, para que o organismo tenha suprimento adequado do substrato, as vias de síntese nos tecidos produtores devem ser ainda mais estimuladas (FERNANDES, et. al.; 2000). Spivak (2005) descreveu que a ativação do sistema imune estimula a produção de citocinas inflamatórias que inibem a síntese de glóbulos vermelhos, direta e indiretamente através da ativação de macrófagos citotóxicos ou supressão na produção de eritropoetina, ou ainda pelas hemorragias provocadas pela neoplasia e em muitos casos caquexia.

Alguns animais com neoplasia apresentam caquexia paraneoplásica, que é uma síndrome complexa, que resulta na perda de peso progressiva, mesmo quando há ingestão aparentemente normal de alimentos e nutrientes. Essa síndrome acontece devido à alteração do metabolismo dos carboidratos, proteínas e lipídios (ANTUNES e MORENO, 2009), e possivelmente é secundária à ação de hormônios ou de citocinas (fator de necrose tumoral,

interleucina-1, interleucina-6, interferons alfa e gama) (OGILVIE e ROBISON, 2004). Desta forma, há diminuição na qualidade de vida dos animais, afetando a resposta ao tratamento da neoplasia e reduzindo o tempo de sobrevivência. As alterações metabólicas associadas com essa caquexia afetam um grande percentual dos animais com neoplasias, mesmo antes das manifestações clínicas da perda de peso (ANTUNES e MORENO, 2009). Além disso, a degradação de proteínas, que geralmente excede a sua síntese, resulta em balanço negativo de nitrogênio (ANGELO e OLIVEIRA, 2009, OGIVELE e ROBISON, 2004). A perda de massa muscular esquelética está relacionada com a presença do fator de necrose tumoral (TNF  $\alpha$ ) (ANTUNES, 2009; ANGELO, 2009) e frequentemente presente nos pacientes com câncer, está associada a uma significativa depleção na concentração de glutamina no tecido muscular esquelético. Por isso a suplementação com glutamina tem sido indicada para pacientes com esse tipo de problema (SOUBA, 1993).

### **3.3 Doenças infecciosas associadas ao estado catabólico e seus efeitos sobre o metabolismo dos animais**

A síndrome clínica causada por agentes infecciosos é comum na clínica de pequenos animais. Dentre as doenças infecciosas, podemos citar as de origens parasitárias, gastrointestinais, do trato respiratório e as cutâneas, as de origem bacteriana, fúngicas, virais e provocadas por protozoários. Para se chegar a um diagnóstico clínico, deve-se associar a clínica do animal com a anamnese, e estabelecer uma lista de diagnósticos possíveis (diagnóstico diferencial), onde serão necessárias a realização de exames laboratoriais apropriados para o caso (LAPPING, 1998).

A cinomose é uma doença viral que afeta os sistemas respiratórios, gastrointestinal e nervoso central. Os animais doentes podem apresentar lesões respiratórias, gastrointestinais, cutâneas e neurológicas (KOUTINAS et. al, 2002). Essa enfermidade é causada por um *Morbillivirus* da família Paramyxoviridae (HASS e BARRETT, 1996). Cães de qualquer idade, raça e sexo podem ser acometidos, contudo, há uma maior predileção por filhotes e cães não vacinados (LAPPING, 1998).

O parvovírus pertencente à família Parvoviridae, subfamília Parcovirinae (COETZER e TUSTIN, 2004) acomete cães de qualquer raça, idade e sexo, mas acomete principalmente cães jovens e não vacinados (GRANO, et. al 2009.). Sua transmissão se dá por contaminação fecal-oral (FRADA, 2009) apresentando como sinais clínicos febre, vômitos, diarreias,

desidratação rápida e alta mortalidade (STROTTMANN, 2008). O quadro diarréico pode apresentar-se de diferentes formas, com cor amarelada, traços de sangue ou até hemorrágico (DECARO, 2005).

A mucosa intestinal é composta por células imunes, neuroendócrinas e inúmeros enterócitos, sendo capaz de perceber o ambiente nutricional e antigênico e ainda atuar na defesa do organismo. A resposta do organismo frente a um processo infeccioso é iniciada primeiramente com a ação dos neutrófilos, sendo estes mais abundantes na circulação, por ser a primeira linha de defesa das células sanguíneas, realizam a fagocitose de antígenos. Ocorre, então, a ativação e a proliferação de linfócitos T, que conseqüentemente estimulam a atividade dos macrófagos e linfócitos B através da liberação de citocinas (NEWSHOLME, 2001).

Outra infecção comum em cães é a piometra, a qual se caracteriza pelo acúmulo de secreção purulenta no lúmen uterino, devido à hiperplasia endometrial cística junto a uma infecção bacteriana. Esta doença é originada por alterações hormonais que permitem a instalação de infecções secundárias (WEISS et. al, 2004). As secreções presentes permitem a proliferação bacteriana, que é favorecida pela inibição da resposta leucocitária à infecção uterina (FERREIRA e LOPES, 2000).

Em resposta a diferentes tipos de agressão, sejam eles químicos, físicos ou biológicos, o organismo responde através de uma resposta inflamatória local, que é responsável pela cura e reconstituição dos tecidos afetados. Na fase aguda da inflamação, ocorrem alterações vasculares, humorais, neurológicas, e celulares. A síndrome da resposta inflamatória é caracterizada pela presença de febre, anorexia, balanço hídrico positivo e hiperglicemia (SANTOS, et. al, 2000.). Independentemente da causa desencadeante, ocorre um aumento da síntese hepática, e conseqüentemente, dos níveis séricos das proteínas de fase aguda (SEYMOUR et. al, 1997).

Alguns trabalhos científicos indicam como principais proteínas de fase aguda a proteína amiloide sérica (PAS), a proteína C reativa (PCR), o fibrinogênio, a proteína ligante de manose (PLM), a haptoglobina (Hp), a ceruloplasmina (Cp), a  $\alpha$ -1-antitripsina, e a  $\alpha$ -1-glicoproteína sérica (YAMAMOTO et al., 1993). Carvalho et. al, (2008), Observaram aumento no fibrinogênio de cadelas, que apresentavam infecções bacterianas (piometra) em quase 100%, ( $p < 0,0001$ ). Em outro trabalho realizado por Nakasu et. al (2011), observou-se que 34% dos animais atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Pelotas

apresentavam aumento do fibrinogênio e que destes, 48,7% não apresentavam alteração leucocitária, revelando o fibrinogênio como marcador agudo do processo inflamatório.

A glutamina é utilizada em altas taxas por células isoladas do sistema imune (linfócitos, macrófagos e neutrófilos), seja em uma resposta sistêmica ou local. É importante na proliferação de linfócitos, na produção de citocinas, em atividades de fagocitose e secreção de macrófagos, e também na morte bacteriana pelos neutrófilos (NEWSHOLME, 2001). A taxa de utilização de glutamina por neutrófilos, linfócitos e macrófagos é similar ou até mesmo maior que a da glicose (CURI, 2000). Em pacientes com câncer, o aparecimento de enfermidades secundárias devido à translocação de bactérias no trato intestinal também está associado, à redução da concentração de glutamina no sangue e com isso redução da proteção das células como linfócitos e macrófagos e da nutrição dos interceptos (SOUBA, 1993; McARDLE, 1994).

Quando se instala uma infecção no organismo, ocorre também a ativação da função imunológica. A estimulação da resposta imune leva a alterações marcantes no metabolismo dos leucócitos, macrófagos e neutrófilos. Esse efeito é acompanhado pela elevação do consumo de GLN por essas células de defesa e, portanto passa a haver uma demanda maior de produção desse AA pelo músculo esquelético, sem reduzir acentuadamente a sua oferta para outros tecidos. Quando essa situação perdura, a proteólise reduz a reserva de proteínas metabolizáveis e a massa proteica, instalando-se a caquexia. Em condições como essa, as vias geradoras de GLN apresentam-se exaustas e como consequência, ocorre uma redução do seu suprimento ao organismo, alterando assim a funcionalidade dos órgãos vitais. Isto resulta assim no agravamento do quadro clínico e das condições de sobrevivência do paciente (CURI, 2000).

Em alguns processos infecciosos, pode haver uma elevação na degradação de proteína, onde a liberação de glutamina excede a sua síntese no músculo esquelético, o que leva a redução da concentração intracelular do AA. (NEWSHOLME, 2001), para priorizar a sobrevivência do animal. A GLN também pode atuar como um regulador metabólico, quando é necessário aumentar a síntese de proteína e reduzir o catabolismo proteico, quando suplementada na dieta, mantendo assim a taxa de deposição proteica no músculo esquelético dentro da normalidade (YI et al, 2005). Sendo assim, quando o consumo excede a sua síntese, a GLN passa a ser classificada como aminoácido essencial (BOELENIS et al., 2004).

Estudos realizados por Souba (1993), onde foram avaliados os efeitos da glutamina sobre a capacidade bactericida *in vitro* de neutrófilos, observou-se que há um aumento da função bactericida das células, porém não se conhece o mecanismo pelo qual isso ocorre.

Através da circulação, a glutamina é captada pelos linfócitos e pode ser utilizada como substrato para a síntese de purina e pirimidinas. Na mitocôndria, a glutamina é desaminada pela glutaminase dependente de fosfato, gerando glutamato que, juntamente com aspartato e lactato, são os metabólitos formados em maior quantidade. Apesar da oxidação da glutamina ser parcial, este aminoácido juntamente com a glicose, é essencial para a manutenção da demanda energética no linfócito. A taxa de utilização de glutamina apresenta-se aumentada quando os linfócitos são expostos a antígenos específicos (PERES, et. al, 2000)

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 - Local da pesquisa e animais experimentais

A Comissão de Ética e Bem-Estar Animal da UFRPE – CEUA autorizou essa pesquisa pelo protocolo 23082.006184/2010.

A pesquisa foi realizada com animais gerando a formação quatro grupos, descritos a seguir.

#### **Animais Sadios**

\_\_ **Grupo 1 (G1)**: animais sadios oriundos de dois grandes canis no bairro de Aldeia, em Camaragibe, Pernambuco. Esses animais formaram o Grupo 1 (G1), com 46 cães e em manutenção, da raça Dogue Alemão, alimentados apenas com ração Premium, alojados em boxes individuais, adultos, com idade entre um e oito anos, de ambos os sexos, mantidos em canis comerciais.

\_\_ **Grupo 2 (G2)**: doadores de sangue alojados em um canil no bairro da Imbiribeira, Recife, Pernambuco. Formado por 22 animais da raça Greyhound, sadios, com idade entre um e oito anos, de ambos os sexos. Este canil tem o único intuito de manter animais para doar sangue. Os animais doam sangue, em média, a cada 30 dias. Se alimentam exclusivamente de ração super-premium específica para animais de grande porte. Todos os animais eram vacinados e livres de enfermidades. Viviam em canis separados por grupos, sendo que a quantidade de animal por canil dependia do espaço físico. Assim os boxes possuíam dois, quatro ou cinco animais. A alimentação era oferecida a eles dentro no recinto, de forma coletiva.

#### **Animais enfermos**

Os grupos 3 e 4 foram constituídos por, animais enfermos atendidos na rotina do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), localizado na cidade Recife.

\_\_ **Grupo 3 (G3)**: animais que apresentavam neoplasias (n=46), sem restrição de idade ou sexo, que se alimentavam de ração e/ou de comida caseira, viviam livres no ambiente familiar.

\_\_ **Grupo 4 (G4)**: portadores de doenças infecciosas (n=19), sem restrição de idade ou sexo. Os animais residiam no Estado de Pernambuco, em municípios variados. Alimentavam-

se de ração e/ou de comida caseira, viviam livres no ambiente familiar. Para esse grupo foram selecionados aqueles que apresentavam as seguintes enfermidades: Cinomose, Gastreenterites, Parvovirose e Piometra. A escolha destas doenças foi pelo fato de serem doenças de alta incidência no Hospital Veterinário.

#### **4.2. Coleta de material**

Todos os exames foram realizados no Laboratório de Patologia Clínica Veterinária, do Hospital Veterinário (Departamento de Medicina Veterinária) e no Laboratório de Biologia Molecular Aplicada à Produção Animal (Biopa), do Departamento de Zootecnia, ambos localizados na UFRPE.

As amostras sanguíneas foram colhidas através de venopunção da jugular e o sangue foi imediatamente colocado em tubo contendo solução de anticoagulante ácido etilenodiaminotetra-acético tripotássico (EDTA-K<sub>3</sub>) a 10%, para a realização do hemograma. Uma alíquota foi separada para dosagens de glutamina e glutamato, imediatamente submetida à acidificação e neutralização conforme descrito por Manso Filho et al, (2008).

Outra fração de sangue sem anticoagulante, foi reservada para análises bioquímicas (ureia, creatinina). A glicemia foi realizada através de bioquímica seca, com o glicosímetro. As amostras de hemograma foram encaminhadas imediatamente para o Laboratório de Patologia Clínica Veterinária (LPCV) e as dosagens de glutamina e glutamato, para o BIOPA.

#### **4.3. Processamento das amostras**

##### **4.3.1 Hematócrito, Dosagem de fibrinogênio e Proteína plasmática total**

Para tais determinações, segundo Jain, (1986) utilizaram-se alíquotas de sangue com EDTA, recém colhido e as técnicas do microhematócrito, de precipitação a 56°C, refratometria para determinação de hematócrito, fibrinogênio, e proteína plasmática total respectivamente.

#### 4.3.2 Bioquímica sérica (Ureia e Creatinina)

Para a análise bioquímica, as amostras de soro sanguíneo foram descongeladas e processadas em analisador bioquímico<sup>1</sup>, utilizando-se kits bioquímicos<sup>2</sup> seguindo orientação do fabricante.

Para garantir o padrão de qualidade das análises, só foram descongeladas as amostras que seriam processadas no mesmo dia, ou seja, nenhuma amostra foi descongelada e congelada novamente para ser analisada posteriormente.

A dosagem de glicose foi realizada através da bioquímica seca, utilizando-se sangue total, sendo realizada no instante da coleta, com glicosímetro<sup>3</sup>.

#### 4.3.3 Glutamina e Glutamato

As concentrações de Glutamato livre e Glutamina foram analisadas em extratos desproteinizados, neutralizados de sangue total, após a conversão inicial de glutamina em glutamato, utilizando-se glutaminase seguida pela detecção enzimática do glutamato (MANSO, 2008). A leitura foi realizada em um Espectrofotômetro<sup>4</sup>.

#### 4.3.4 Índice de escore corporal (IEC)

Foi utilizado o método descrito por Edney e Smith, (1986) no qual o animal é avaliado por cinco categorias distintas, que são: 1 - caquético, 2 - magro, 3 - condição ideal, 4 - com sobrepeso e 5 - obeso. Adaptado, onde 6 - obeso sem diferença entre a garupa e o tórax e 7 - obeso com dificuldade de locomoção. O fluxograma utilizado pode ser visto Figura 3 do anexo 5.

---

<sup>1</sup> Analisador bioquímico semi-automático D-250, Goiás, Brasil

<sup>2</sup> Reagentes Dolles, Goiás, Brasil.

<sup>3</sup> Accu-checkadvantage, Roche Diagnostics, Brasil.

<sup>4</sup> Espectrum SP 2000, Xangai, China.

## 4.2. Análise Estatística

Os dados inicialmente foram avaliados pelo programa SigmaStat<sup>5</sup> usando-se Análise de Variância (ANOVA), para mais de três grupos, com nível de significância estabelecido em 5%. Em seguida as diferenças entre as médias foram identificadas através do teste Tukey, em nível de 5%.

---

<sup>5</sup> Versão 3.0, Jandel Scientific, San Rafael, CA

## 5. RESULTADOS

Foram analisadas 68 amostras sanguíneas de animais sadios (46 não doadores e 22 doadores de sangue) e 65 amostras de cães que apresentavam alguma enfermidade (19 com doenças infecciosas e 46 com neoplasias); listados nos Quadros 1, 2, 3 e 4. As amostras de sangue foram colhidas com a autorização de seus tutores.

Os resultados demonstraram que [GLN] e de [GLN+GLU] estavam reduzidas nos animais enfermos (G3 e G4) e doadores de sangue (G2) quando comparados com os animais sadios ( $P<0,05$ ). Sendo que o grupo com câncer, grupo com doenças infecciosas graves e grupo de doadores apresentaram uma redução de ~73%, ~88% e ~82%, respectivamente, na [GLN] em relação aos animais sadios (Tabela 1). As [GLU] mais elevadas foram observadas nos animais com neoplasia e naqueles com grave enfermidade e os valores mais baixos observados nos animais sadios do G1 ( $P<0,05$ ).

Já os resultados das concentrações de Proteína Plasmática Total (PPT) demonstraram que os animais com câncer apresentaram níveis mais elevados quando, comparados com os demais grupos ( $P<0,05$ ). Enquanto que os valores de creatinina e hematócrito foram mais elevados no grupo de doadores de sangue ( $P<0,05$ ) conforme pode ser visto nas Tabelas 2 e 3. Não foram observadas diferenças entre os grupos nas concentrações de fibrinogênio, ureia e glicose (Tabelas 2 e 3). Os resultados do Índice de Escore Corporal (IEC) apresentaram diferença estatística entre os grupos de animais, sendo que o grupo de animais sadios doadores de sangue e os grupos de animais enfermos apresentaram o IEC mais baixo entre os grupos estudados ( $P<0,05$ ).

**Tabela 1:** Comparação entre concentrações de Glutamina, Glutamato, Glutamina + Glutamato em caninos saudáveis, caninos doadores de sangue, animais com neoplasia, e animais com grave enfermidade infecciosa.

Parâmetros	Grupos			
	Caninos saudáveis não doadores de sangue (n=46)	Caninos saudáveis doadores de sangue (n=22)	Caninos com Câncer (n=46)	Caninos com enfermidade infecciosa grave (n=19)
Glutamina (umol/L)	0,746±0,027 A	0,202±0,037 B	0,130±0,017 B	0,088±0,013 B
Glutamato (umol/L)	0,117±0,008 B	0,168±0,031 AB	0,238±0,030 A	0,248±0,040 A
Glutamina + Glutamato (umol/L)	0,863±0,031 A	0,362±0,050 B	0,384±0,040 B	0,336±0,049 B

**Observação:** Letras diferentes na mesma linha indicam  $\neq$  estatística pelo teste de Tukey (P<0,05).

**Tabela 2:** Resultados das concentrações de proteína plasmática total, fibrinogênio, uréia e creatinina em caninos sadios, caninos doadores de sangue, animais com neoplasia, e animais com grave enfermidade infecciosa.

Parâmetros	Grupos			
	Caninos sadios não doadores de sangue (n=46)	Caninos sadios doadores de Sangue (n=22)	Caninos com Câncer (n=46)	Caninos com enfermidade infecciosa grave (n=19)
Proteína plasmática total (mg/dL)	6,73±0,13 B	7,18±0,18 B	8,21±0,17 A	7,08±0,19 B
Fibrinogênio (mg/mL)	306,25±26,92 A	328,57±39,82 A	306,25±50,90 A	405,88±68,85 A
Uréia (mg/mL)	39,00±2,93 A	42,86±1,51 A	35,79±2,58 A	47,00±4,62 A
Creatinina (mg/mL)	0,73±0,02 C	1,16±0,04 A	0,93±0,04 BC	0,98±0,11 AB

**Observação:** Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística ( $P < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

**Tabela 3:** Resultados da percentagem do hematócrito, da concentração de glicose e do índice de escore corporal em caninos saudáveis, caninos doadores de sangue, animais com neoplasia, e animais com grave enfermidade infecciosa.

Parâmetros	Grupos			
	Caninos saudáveis não doadores de sangue (n=46)	Caninos saudáveis doadores de Sangue (n=22)	Caninos com Câncer (n=46)	Caninos com enfermidade infecciosa grave (n=19)
Índice de escore corporal	4,33±0,10 A	3,50±0,01 B	4,13±0,14 A	3,46±0,10 B
Glicose (mg/dl)	71,30±1,19 A	72,76±3,70 A	85,68±7,08 A	83,74±4,14 A
Hematócrito (%)	39,10±0,90 B	47,67±0,72 A	37,80±1,06 B	36,06±1,94 B

**Observação:** Letras diferentes na mesma linha indicam  $\neq$  estatística pelo teste de Tukey (P<0,05).

## 6. DISCUSSÃO

### 6.1. Variação na concentração da Glutamina e Glutamato nos grupos DE ANIMAIS estudados

Após a análise dos resultados observa-se que a [GLN] em animais sadios assemelha-se aos descritos por Archibald (1944) (~850umol/L), e por Iwashita et al., (2005) (~780umol/L). Todavia quando a [GLN] do G1 foi comparada com os valores descritos por Marchini et al.(1999) (~370umol/L) e Delaney (2001) (~495umol/L), identifica-se que os valores da [GLN], no atual experimento, foram bastante superiores por outro lado, poucos são os estudos sobre a glutamina em animais enfermos, mas Maede et al., (1984) estudando a [GLN] em caninos com enfermidade hereditária hemorrágica, associada ao excesso de glutathione, encontrou valores de ~950umol/L.

Ainda observando-se os resultados das [GLN], observa-se que quando se compara os valores desse aminoácido descritos por diferentes autores (ARCHIBALD, 1944; MAEDE *et al.*, 1984; MARCHINI et al., 1999; DELANEY, 2001; IWASHITA et al., 2005) observa-se que a [GLN] nos grupos G3 (neoplasias) e G4 (infecções) apresentaram valores bem inferiores aos descritos por eles. Em ambos os grupos, a redução da [GLN] foi dramática e pode ter efeitos importantes sobre o processo patológico e para a recuperação dos animais. No G3, acredita-se que a GLN estava sendo metabolizada pelas células tumorais como descreve DeBarardinis e Chang (2007) e Souba (1993). Já no G4, tanto a enfermidade digestiva quanto o intenso recrutamento dos glóbulos brancos, podem ter causado a importante redução na [GLN] nos animais.

A [GLN] nos animais doadores de sangue foi ~73% inferior aos valores dos animais sadios (G1). Existem três fatores que podem justificar essa importante diferença entre os grupos G1 e G2, que são grupos formados por animais sadios e bem manejados. A primeira delas é considerar que animais doadores de sangue assemelham-se aos animais com grandes hemorragias. Kana et. al (2009) trabalharam com animais em choque hemorrágico e classificado como sendo um estresse oxidativo, afirmando que isso causa lesão de tecido intestinal. O estresse oxidativo produzido pelo choque hemorrágico induz à ação da heme oxigenase, uma enzima que serve como protetor da mucosa intestinal lesada, protegendo os tecidos dessa injúria. Por essa razão, espera-se então que a [GLN] esteja reduzida em animais

com graves hemorragias, pois durante o processo de doação de sangue, o animal perde uma quantidade significativa de sangue, e como um dos tecidos que absorve glutamina são os enterócitos, a concentração de glutamina nos enterócitos encontrará reduzido.

A segunda estaria relacionada ao processo de renovação celular, pois os animais que doam sangue perdem grande quantidade de sangue a cada 30 dias, passando desta forma por esse processo, constante. De acordo com Curi (2000), durante o processo de renovação celular a GLN é consumida pelas células, servindo como fonte de energia.

A terceira estaria relacionada ao fato dos animais pertencentes a esse grupo serem da raça Greyhound, pois Couto (2011) afirma que valores de referência utilizados para outras raças da espécie canina podem não ser o mesmo dos padrões esperados para os Greyhounds, pois essa raça apresenta valores de referência diferenciados de outras raças de cães, necessitando assim de mais estudos para o grupo em questão. Devido a esse fato, o metabolismo da GLN poderia ser mais bem estudado nesse grupo de caninos, inclusive objetivando o estabelecimento de programas nutricionais que visem repor a [GLN] no sangue e facilitar a recuperação dos animais.

Sabendo-se que a as células neoplásicas são de alto grau proliferativo e que a GLN serve como fonte de energia (DeBERARDINIS e CHANG, 2007; SOUBA, 1993), esta é utilizada em grande quantidade. Diferentes estudos confirmam que durante graves enfermidades, sejam elas neoplasias ou infecciosas, a concentração da glutamina fica bastante reduzida (SOUBA, 1993).

Diferentes enfermidades do trato digestivo provocam uma elevação na utilização da GLN plasmática (SOUBA, 1993, MARCHINI et al., 1999). A enfermidade com maior incidência durante o período de estudo no Hospital Veterinário foi a gastroenterite, seja ela uma diarreia sem causa definida ou a parvovirose, que produz uma grave diarreia hemorrágica (Quadro 3 e 4).

Segundo Palanch (2000), o intestino delgado é o principal sítio de metabolização da glutamina, onde pode ser considerado um substrato energético mais importante que a glicose. Os enterócitos adquirem toda ou quase toda glutamina consumida na dieta, utilizando apenas cerca de 20 a 30% da glutamina do plasma.

Marchini et al., (1999) observaram que a suplementação com GLN em caninos sadios não foi capaz de elevar a síntese proteica no intestino. Desta forma, acredita-se que um dos fatores que influenciaram a diminuição da glutamina no grupo 4 pode estar relacionado à

deficiência de absorção desse AA pelos enterócitos, passando assim a ser utilizada uma maior quantidade de glutamina proveniente do plasma. Também em animais com câncer, devido à grave redução da [GLN], há um aumento da translocação de bactérias e suas toxinas no intestino, por isso a suplementação com GLN melhora o desenvolvimento das vilosidades, reduzindo as diarreias e protegendo esse órgão dos insultos bacterianos (SOUBA, 1993; McARDLE, 1994)

Outra vertente estaria relacionada à resposta do animal frente ao processo infeccioso, pois segundo Freitas e Penha (2006), a resposta do organismo a um processo infeccioso se inicia com a ação dos neutrófilos, que representam as primeiras células de defesa sanguíneas, realizando a fagocitose de antígenos. Essas células utilizam intensamente a GLN como fonte de energia e, com isso, causam uma hipoglutaminemia, que foi observada no G4. Nesse grupo a [GLN] representou menos de ~82% do valor observado nos animais saudáveis. Parry-Billings et. al (1998), afirmam que a glutamina se apresentará reduzida em diferentes situações clínicas e catabólicas, e por isso deve ser melhor estudada.

Quando se compara a [GLN] dos grupos saudáveis doadores de sangue, com câncer, ou doença infecciosa grave, observa-se que não houve diferença estatística entre os grupos. Aparentemente não há um simples fator para isso, mas poderia envolver a raça dos animais doadores, devido à grande utilização desses aminoácidos por células de renovação sanguínea, a [GLN] no sangue dos animais do G3 pode ser baixo. Os animais utilizados nesse experimento doam sangue e são suplementados com concentrados tipo Premium, mas mesmo assim a [GLN] foi bem inferior aos dos animais do G1.

Estudos sobre a suplementação com GLN em caninos são escassos, mas Costa, et. al. (2009), estudando cães acometidos por parvovirose e que receberam alimentação enteral com e sem GLN, observaram-se que não houve diferença estatística significativa na taxa de mortalidade, apesar de vários estudos na medicina humana revelarem que a glutamina melhora a função da barreira e da mucosa intestinal, diminuindo a permeabilidade e a cicatrização da mucosa. Os mesmos autores atribuem o resultado obtido por ter sido utilizado pequena quantidade de glutamina, porém afirma que uma quantidade maior poderia levar o animal a apresentar quadros de vômitos e agravar o quadro diarreico. Também Marchini et al., (1999) não detectaram anabolismo protéico no intestino delgado de caninos saudáveis quando suplementados com GLN. Mas, todos esses estudos contrastam com outro, em diferentes espécies, que indicam que a suplementação com GLN melhora a integridade da mucosa

intestinal após tratamento com radioterápicos e pela quimioterapia (SOUBA, 1993; McARDLE, 1994).

A [GLU] nos animais do G1 apresentou-se numericamente menor do que nos animais sadios doadores de sangue. Para que a glutamina seja utilizada pelo organismo é necessário ser hidrolisada e a partir de sua hidrólise ocorre a formação do GLU e liberação de amônia; quanto maior consumo de GLN maior a [GLU]. Acredita-se que essa seja a explicação para a relação apresentada pelos animais sadios. Este fato foi explicado por Pompéia (2000), onde mostra a equação da hidrólise de GLN. Sendo assim, fica também explicado o motivo dos animais pertencentes ao grupo dos doentes (câncer e doença infecciosa grave) apresentarem também uma maior [GLU]. Ainda se observa que as [GLU] encontrada no G1 no atual experimento foram pouco inferior aos estudos de Maede et al. (1984) (~200umol/l) e Marchini et al. (1999) (~170umol/l) mas superior aos de Iwashita et al. (2005) (~40umol/l). Os animais dos G2, G3 e G4 apresentaram a [GLU] sempre superior dos desses estudos, indicando a maior produção desse aminoácido pelo diferentes processos metabólicos nos animais dos grupos G2, G3 e G4 do presente experimento.

A [GLN+GLU] revelou que o grupo de animais sadios não doadores de sangue apresentou valores mais elevados ( $P < 0,05$ ) do que os demais grupos. Apesar do aumento sanguíneo do GLU ocorrer sempre em que houver um consumo de GLN maior que sua síntese, ou seja [GLN] abaixo do esperado para espécie, a liberação de GLU não é proporcional ao consumo de GLN, que pode aplicar a redução das [GLN+GLU] observada nas doenças estudadas. Foi observado também que os animais enfermos (neoplasia e enfermidades infecciosas) apresentaram redução de [GLN] e [GLN+GLU]. Observou-se claramente que nas situações estudadas a redução desse aminoácido no sangue dos animais pode comprometer sua utilização pelos tecidos consumidores, como os enterócitos e células do sistema imune.

A redução no consumo de GLN pode aumentar a suscetibilidade do paciente a infecções. Normalmente não se relata esses aminoácidos somados, mas Brady et al., (1977), estudando caninos após prolongado jejum, determinou a [GLN+GLU] para o grupo controle (~474 umol/L) e após 21 dias de jejum alimentar (~300 umol/L), que foi bem inferior aos valores do G1. Todavia o valor determinado por Brady et al (1977) após 21 dias assemelha-se aos valores determinados em G2, G3 E G4.

## **6.2 Variação dos marcadores do metabolismo das proteínas nos grupos estudados (ureia, creatinina, PPT, FIB)**

A variação na concentração da ureia e creatinina pode ser um indicativo de intenso metabolismo proteico. Nos animais estudados, os níveis de uréia (tabela 2) não apresentaram diferença estatística entre o grupo sadio não doador de sangue quando comparados com os animais sadios doadores de sangue e o grupo de animais doentes (neoplasia e doença infecciosa grave). Todavia, diferentes resultados foram encontrados pelos pesquisadores Angelo e Oliveira (2009), ao observarem que em ratos portadores de tumor de Walker-256, ocorreu um aumento gradativo na concentração da uréia durante o desenvolvimento do tumor, da ordem de 231%. Os autores afirmaram ainda que o indicativo do aumento da ureia ocorre gradativamente desde o oitavo dia da inoculação da célula tumoral. Entretanto, aqui fica difícil comparar os estudos, pois os animais avaliados nesse experimento estavam em quadros avançados de desenvolvimento das suas enfermidades, diferentemente dos estudos desenvolvidos por Angelo e Oliveira (2009).

Diferentes autores têm buscado entender como funciona o metabolismo protéico nos pacientes com câncer. DeBerardinis e Cheng (2009) afirmaram que o mecanismo pelo qual a célula neoplásica dispõe da amônia durante o rápido catabolismo da glutamina não está esclarecido, e acredita-se que durante a utilização da GLN, pela célula neoplásica como fonte de energia, ocorra a liberação amônia. Esta amônia por sua vez participa da síntese da glutamina, através do glutamato, amônia e ATP. A glutamina para ser utilizada pelo organismo animal precisa primeiramente ser hidrolisada, formando como produto glutamato e amônia; a amônia, por sua vez participa do ciclo da ureia, o que sanguínea da mesma sempre que há consumo excessivo de glutamina.

O grupo de animais sadios doadores de sangue apresentou diferença estatística na [creatinina] quando comparados com os demais grupos, incluindo o grupo sadio não doador de sangue. Isso pode ser justificado pelo fato dos animais desse grupo ser composto exclusivamente por cães da raça Greyhound. Feeman, et. al. (2003), afirmam que cães desta raça apresentam valores de creatinina mais elevados que as demais, por apresentarem maior quantidade de massa muscular, que cães de outras raças, apesar do IEC ser menor, pois eles possuem menor quantidade de massa gorda.

Em estudo realizado por Castellanos (2009), com cães de diferentes raças, correlacionando massa corporal com a [creatinina], foi observado uma correlação positiva entre a massa corporal e a [creatinina]; quanto maior a massa corporal maior foi a [creatinina] encontrada. Todavia deve-se observar que a concentração de creatina no sangue dos animais ainda depende das características da sua alimentação e não apenas das enfermidades ou da raças.

O grupo de animais doentes (neoplasia e infecciosa grave) não apresentou diferença estatística entre si, porém os animais com doença infecciosa apresentaram diferença estatística com os doadores de sangue, e os animais não doadores de sangue não apresentou diferença estatística quando comparados com os animais do grupo de neoplasia. Apesar da diferença estatística apresentada entre os grupos, todos estão dentro dos valores de referência descritos por Kaneko (1997).

Os valores de proteína plasmática total, obtidos revelam que houve diferença estatística entre os animais com neoplasia e os demais grupos. Os animais com neoplasia apresentaram os valores de PPT mais elevados que os demais grupos estudados. Segundo Kaneko (1997), qualquer alteração na temperatura do animal pode provocar um aumento na proteína. Isto se deve à perda de nitrogênio e aumento da atividade adrenal. Em alguns casos, uma perda de proteína sérica total e albumina podem levar o aumento da globulina associada à resposta aguda e em caso de grandes lesões, fratura óssea e cirurgia extensa, podendo ainda aparecer elevada quando os animais tem infecção, tumores, choques em amostras hemolisadas e em animais desidratados e idosos.

Os resultados obtidos divergem dos apresentados por Kaneko (1997), pois os animais com doenças infecciosas não apresentaram aumento de PPT. Entretanto Ferreira et al, (2010) hipoproteinemia em cães com gastroenterites. Acredita-se que o G4 não apresentou alteração na concentração de proteínas plasmáticas por se tratar de um grupo misto de doenças infecciosas (piometra, cinomose, gastroenterites, e parvovirose), sendo que provavelmente, os animais apresentando piometra e cinomose poderiam ter um hiperproteinemia, enquanto que os animais com gastrenterites e parvovirose poderiam apresentar uma hipoproteinemia, desta forma os resultados obtidos podem estar mascarados.

Não foi observada diferença estatística entre os grupos estudados em relação à dosagem de fibrinogênio plasmático, apesar de ser considerado como marcador agudo do processo inflamatório. Kaneko et. al (1997) descreve que o fibrinogênio é de bastante valia em equinos

e ruminantes, porém para cães e gatos apresenta menor sensibilidade, divergindo dos resultados encontrados por Carvalho et. al (2008), que observaram aumento no fibrinogênio em cães com desordem inflamatória aguda.

### **6.3 Variação da concentração da glicose, do hematócrito e do IEC nos grupos estudados**

Sabe-se que tumores malignos apresentam taxa metabólica bastante elevada, com um mecanismo de adaptação à proliferação rápida das células. Desta forma, ocorre um consumo elevado da glicose para que haja a extensão do tumor, quando comparado à célula normal.

Kroemer e Pouyssegur (2008) afirmaram que as células neoplásicas podem metabolizar grande quantidade de glicose e glutamina excedendo assim a capacidade do organismo de sintetizar tais metabolitos. Segundo Damaso (2009), tanto a glicose quanto a glutamina são essenciais para o crescimento celular e não funcionam de modo independente. Durante o crescimento de células normais ou cancerosas ocorre um processo no nível celular que envolve ambas as substâncias. No entanto os autores afirmam que não se sabe o por que desta correlação entre glutamina e glicose.

Segundo Baggetto (1997), em tumores malignos, o catabolismo da glicose ocorre quase que exclusivamente pela glicólise, e nos tecidos normais o catabolismo da glicose ocorre também pela oxidação do ciclo de Krebs. Desta forma, espera-se que animais com neoplasia apresentem uma redução na glicemia, pois, segundo Fernandes et. al (2000), 1 mol de glicose só irá produzir 2 mols de ATP na célula neoplásica. Já no tecido normal, 1 mol de glicose produzirá 38 mols de ATP. Assim, torna-se necessário uma maior quantidade de glicose para produzir a mesma quantidade de energia, o que levaria a um quadro de hipoglicemia. Porém, não foi observada diferença estatística entre os grupos estudados.

A gliconeogênese é uma reação que ocorre quase que exclusivamente no fígado, mas em situações graves de catabolismo pode ocorrer também nos rins. A gliconeogênese utiliza aminoácidos para a produção de glicose, em geral, usa-se a lisina e leucina, porém todos os aminoácidos podem ser utilizados, podendo assim comprometer ainda mais a disponibilidade de glutamina no fígado.

O valor obtido no hematócrito revelou que os caninos sadios doadores de sangue apresentaram um maior percentual de células vermelhas em relação ao plasma. Couto (2001) descreveu que cães da raça Greyhound apresentam concentrações de hemoglobina e hemácias

em níveis mais levados que as demais raças de mesma espécie, por esta razão esses animais foram escolhidos como doadores de sangue.

Apesar de Fernandes et. al, (2000) descreverem que as neoplasias são bastantes vascularizadas e Withorow e Macenwen (2007) relatarem que animais com neoplasias podem apresentar anemia e valores de hematócrito baixo isto não foi observado, não havendo diferença estatística entre os grupos estudados. Acredita-se que os animais com neoplasia não revelaram alteração no valor do hematócrito por apresentarem níveis elevados de PPT, pois segundo Kaneko (1997), um aumento no valor de PPT pode estar relacionado com desidratação, podendo assim elevar a uma concentração das células vermelhas no sangue aumentando assim o valor do hematócrito, relata ainda que animais com tumores possam apresentar hiperproteinemia, estando de acordo com os resultados obtidos.

Apesar Willard (1993) descrever que a anemia pode ser de origem hemorrágica e Decaro (2005) relatar que a parvovirose pode apresentar quadros de diarreia com raios de sangue e quadros diarreicos hemorrágicos, o grupo de animais com doença infecciosa (Quadro 4) não apresentou diferença estatística em relação aos grupos de animais sadios e com neoplasia. Acredita-se que os animais pertencentes a esse grupo não apresentaram valores hematológicos condizentes com anemia, por conta da provável desidratação apresentada, pois animais com diarreia perdem uma grande quantidade de líquido.

Apesar de Antunes e Moreno (2009) afirmarem que algumas neoplasias podem resultar em caquexia, os animais do grupo com neoplasia não apresentaram diferença estatística quanto ao IEC, quando comparados com o grupo de animais sadios não doadores de sangue. A ausência de diferenças pode ser explicada pelo fato das alterações laboratoriais instalarem antes da alteração de catabolismo, caracterizada pela perda de peso e IEC baixo. Ou seja, os animais apresentam alterações nos valores referentes aos aminoácidos (inclusive glutamina) e proteínas musculares antes mesmo de apresentarem caquexia paraneoplásica.

Já os animais doadores de sangue apresentaram diferença estatística ( $P < 0,05$ ) quando comparados com o grupo de animais sadios não doadores de sangue, observando-se valores de IEC inferiores no grupo dos doadores. Isso pode ser explicado pelo fato do grupo de animais doadores de sangue ser composto única e exclusivamente por animais da raça Greyhound. O IEC destes animais é, portanto, uma consequência do padrão racial. Segundo Kennel Club (2004), os Greyhound são cães que não podem ser gordos, pesam em média 27 a 36 kg, seu temperamento é tranquilo, de baixa agressividade. Na aparência geral, é um cão

aristocrático, imponente, sua musculatura é de constituição sólida, apresenta o lombo arqueado e membros flexíveis e potentes, sua conformação física de um modo geral revela sua aptidão para velocidade. Apesar de serem magros e possuírem o peso mínimo considerado como aceitável para um doador de sangue, os Greyhound apresentam uma alta concentração de hematócrito e hemoglobina, além de fazerem parte do grupo sanguíneo tido como “doador universal”. Levando em consideração essas características, considera-se que são doadores de sangue ideais.

Os animais com doença infecciosa também apresentaram o IEC mais baixo que o grupo de animais sadios não doadores de sangue e o grupo de animais com neoplasia. A maioria das doenças infecciosas apresenta como sinais clínicos a diminuição do apetite e perda de peso, sendo esperado, portanto, que os animais incluídos neste grupo apresentassem um IEC baixo.

## 6. CONCLUSÕES

Conclui-se que nos grupos de animais enfermos (com câncer e doenças infecciosas graves) a degradação da GLN é elevada, o que pode comprometer a disponibilidade desse nutriente para os tecidos consumidores durante a evolução das enfermidades, dificultando a recuperação. No grupo de doadores de sangue, a degradação de glutamina também foi elevada e isto pode interferir no intervalo de tempo entre uma doação e outra.

Uma vez conhecida as necessidades metabólicas dos animais, pode-se suplementá-los com ração contendo a necessidade de cada grupo, melhorando assim a qualidade de vida dos animais, recuperação mais célere e redução da mortalidade dos animais enfermos.

Ao se conhecer os resultados, pode-se agora suplementar os animais sadios doadores de sangue na tentativa de reduzir o intervalo de tempo entre as doações, obtendo desse modo maior rentabilidade para os criadores destes animais e salvando mais vidas com um menor número de animais criados para doação sanguínea.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKIBA, W. F; GUIMARÃES, S. B; VASCONCELOS, P. R. C; VASCONCELOS, P. R. L; Repercussões da l-alanina-glutamina sobre as concentrações de lactato e lacto desidrogenase (LDH) em pacientes com isquemia crítica dos membros inferiores submetidos a revascularização distal. *Acta Cirurgia Brasileira*, v.18, n.13, p.110-121, 2003.

ANGELO, H. R. S. e OLIVEIRA, G.G. Caquexia e alterações bioquímica em ratos com tumor de Walker 256. *Terra e cultura*, n. 48 e 49. Ano 25, 2009.

ANTUNES, M.I. P e MORENO, C. Manejo da caquexia paraneoplásica em cães e gatos. *Arq. Ciên. Vet. Zool. UNIPAR*, Umarama, v.12, n.2. p.157-162. Jul./dez. 2009.

ARCHIEBALD, M. R. The enzymatic determination of glutamine. *Journal of Biological Chemistry*, v. 16 p. 648-656, 1944.

BAGGETTO, L.G. Biochemical genetic and metabolic adaptation of tumor cells that express the typical multidrug-resistance phenotype. Reversion by new therapies. *Journal .Bioenerg Biomembr* V. 29, p.401-413, 1997.

BARBUL, A.; LAZAROU, S.A.; EFRON, D.T.; WASSERKRUG, H.L.; EFRON, G. Arginine enhances wound healing and lymphocyte immune responses in humans. *Surgery*, v. 108, p. 331-337, 1990.

BERTEVELLO PS, SEELAENDER MCL. Heterogeneous response of adipose tissue to cancer cachexia. *Braz J Med Biol Res*, V. 34(9) p.1161-1167, 2001.

BOELEN, P.G.; HOUDIJK, A.P.J., FONK, J.C.M. et. al. Glutamine-enriched enteral nutrition increases in vitro interferon-gamma production but does not influence the in vitro specific antibody response to KLH after severe trauma. A prospective, double blind randomized clinical study. *Clinical Nutrition*, v. 23 p. 391-400, 2004.

BRADY, L.J.; ARMOSTRONG, M.K.; MUIRURI, K.L.; ROMSOS, D.R.; BERGEN, W.G.; LEVEILLE, G.A. **The Journal of Nutrition**, v. 107, p. 1053-1061, 1977; BRADY, P. S., SHELLE, J.E; ULLREY, D.E. Rapid changes in equine erythrocyte glutathione reductase with exercise. **Amer. J. Vet. Res.** v. 38 p.1045, 1977.

BRAHIMI-HORN, M.C.; CHICHE, J.; POUYSSEGUR, J. Hipoxia signaling controls metabolic demand. **Curr. Opin. Cell. Biol.** V. 19, p.223-229, 2007.

BULUS, N.; CERSOSIMO, E.; GHISHAN, F.; ABUMRAD, N.N. Physiologic importance of glutamine. **Metabolism**, V. 38, n.1. p.1-5, 1989.

CARVALHO, C.C.D., RÊGO, E.W., QUEQUE, M., SOARES, P.C. Avaliação da proteína C reativa, fibrinogênio e leucograma em cadelas com e sem piometra. **Medicina Veterinária, Recife**, v.2, n.2, p.1-8, 2008.

CASTELLANOS, R.; THIELEN, V.; LUIGI, M.A.; TORRES, Y. Influencia de la masa corporal sobre la concentración sérica de creatinina en perros adultos de la parroquia San José, municipio Valencia, Edo. Carabobo, **Venezuela. Rev. Cient. (Maracaibo)**, v.19, n.1, p.25-30, 2009.

COEZER, J.A.W.; TUSTIN, R.C. In: Parvoviridae. Infectious Diseases of Livestock. **New York: Oxford**, v. 2, p. 805, 2004.

COLLEONE, V.V, KANUNFRE, C.C., MARTINS, A.K.M, SAMPAIO, S.C.S, CURI, R. Glutamina sintetase (E.C.6.3.1.2) ou l-glutamina: amônia ligase. CURI, R. In: **Glutamina: metabolismo e aplicações clínicas e no esporte**. Rio de Janeiro: Sprint., 2000, p. 65-85

COSTA, P.R.S.; CONCEIÇÃO, L.G.; LOPES, M.A.F. Nutrição enteral precoce com glutamina em cães com gastroenterite hemorrágica pelo parvovirose canino. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** V.61, n.5. p. 1251-1253, 2009.

COUTO, C.G. Resultado de laboratório. College of Veterinary Medicine. Disponível em <<http://vet.osu.edu/greyhound-es/resultados-de-laboratorio>> Acessado 13/12/2011

CURI, R. **Glutamina: Metabolismo e aplicações clínicas e no esporte**. Rio de Janeiro:sprint. 2000.

DAMASO, C. **Glicose e glutamina podem ser a chave para importantes descobertas sobre o câncer. Notas e Notícias.** Disponível em <[http://www.nutritotal.com.br/notas\\_noticias/?acao=bu&id=403](http://www.nutritotal.com.br/notas_noticias/?acao=bu&id=403)>acessado 03/01/12

DeBERARDINIS R.J, MANCUSO A, DAIKHIN E, NISSIM I, YUDKOFF M, WEHRLI S, THOMPSON C.B. Beyond aerobic glycolysis: Transformed cells can engage in glutamine metabolism that exceeds the requirement for protein and nucleotide synthesis. **Proc Natl Acad Sci** v.104, p.19345–19350, 2007.

DeBERARDINIS, R.J. e CHENG, T. Q's next: The diverse functions of glutamine in metabolism, cell biology and cancer. **Oncogene**. v.29, n. 3, p.313–324, 2010.

DeBERARDINIS, R.J.; CHENG, T. Q's next: The diverse functions of glutamine in metabolism, cell biology and cancer. **Oncogene**. V. 21; nº. 29 p. 313–324, 2008.

DeBERARDINIS,R.J.; SAYED, N.; DITSWORTH, D.; THOMPSON. G.B. Brick by brick: metabolism and tumor cell growth. **Curr Opin Genet Dev**. v.18, n.1, p.54–61, 2008.

DECARO, N.; DESARIO, C.; CAMPOLO, M; ELIA, G. et al. Clinical and virological findings in pups naturally infected by canine parvovirus type 2 Glu-426 mutant. **J. Vet. Diagn. Invest.**, v.17, p.133-138, 2005.

DeBERARDINIS, R.J; SAYED, N.; DITSWORTH, D.; THOMPSON, C.B. Brick by brick: metabolism and tumor cell growth. **Curr Opin Genet Dev**. v.18 nº1 p.54–61, 2008.

DELANEY, S.J.; HILL, R.C.; BACKUS, G.L. CZARNECCKI-MAULDEN.; ROGERES, Q.R. Dietary crude protein concentration does not affect the leucine requirement of growing dogs. **J. anim. Physiol. Amim. Nutr.** v. 85. p. 88-100, 2001.

EDNEY, A. T. B.; SMITH, P. M. Study of obesity in dogs visiting veterinary practices, **Vet Rec.** 1986 Apr 5;118(14):391-6.

FEEMAN, W.E.; COUTO, C.G.; GRAY, T.L. Serum creatinine concentrations in retired racing Greyhound. **Vet. Clin. Pathol.** v.32, nº1 p.40-42. 2003.

FERNANDES, L.C.; SOUZA JÚNIOR, A.L.; SANTOS, B.M.A.; CURI, R. Glutamina e câncer, In: CURI, R. **Glutamina: metabolismo e aplicações clínicas e no esporte.** Rio de janeiro:sprint. p. 209-2017, 2000.

FERREIRA, R. C.; LOPES, D. M.;Complexo – hiperplasia cística endometrial / piometra em cadelas – revisão. **Clinica Veterinária**, nº27, p. 36 – 43, 2000.

FERREIRA, R.R.; BARBOSA, P. R.; GODINHO, E.; COSTA, , U.M.; GONZÁLEZ, F. H. D.; FERREIRA, L. Alteração hema-bioquímica em cães jovens com gastroenterite viral: relato de 18 caso. **Anais do anclivepa**, 2010. Disponível em <<http://pt.scribd.com/doc/12908273/Patologia-Clinica-Hematologia-Veterinaria>> acessado 04/01/12

FIGUEIREDO, J. A. Efeito da suplementação nutricional com glicina e glutamina, por via oral, na cicatrização colônica em coelhos. **Rev. Col. Bras. Cir.** Rio de Janeiro, v. 36 n.2, Mar./Abr., 2009.

FRADA, M.E.D.B. Estudo do leucograma e resposta ao tratamento antibiótico em cães com parvovirose, 2009. **Tese de mestrado.** Disponível em <[http://www.hvbv.net/site/publicacoes/article/145/Tese\\_Final\\_Maria\\_Frada.pdf](http://www.hvbv.net/site/publicacoes/article/145/Tese_Final_Maria_Frada.pdf)> Acessado 05/12/11

FREITAS, L. S; PENA, S. M. Utilização de glutamina em processo infecciosos. **Revista Eletrônica Nutrine**, v.3, nº4, p.337-342, 2006.

GOLDIN, E., APTEAR, L., SIGUENCIA, J., TSVANG, E., et al. Reduced glutamine content in colonic polyps. **Scand. Journal Gastroenterol.** V. 31 p. 345-348, 1996.

GRANO, F.G.; HAMZÉ, A. L.;PACHECO, A. M.; ZAPPA, V. Gastroenterite hemorrágica – relato de caso. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária.** Disponível < <http://www.revista.inf.br/veterinaria13/relatos/rc%2009.pdf>>Ano VII, nº13, 2009.

GUPPY M, LEEDMAN P, ZU X, RUSSEL V. Contribution by different fuels and metabolic pathways to the total ATP turnover of proliferating MCF-7 breast cancer cells. **Biochem J.** 364:309, 2002.

HAAS, L.; BARRETT, T. Rinderpest and other animal morbillivirus infections: comparative aspects and recent developments. **Journal of veterinary medicine**, v. 43, p. 411-420, 1996.

IWASHITA, S.; WILLIAMS, P.; JABBOUR, K.; UEDA, T.; KOBAYASHI, H.; BAIER, S.; FLAKOLL, P.J. Impact of glutamine supplementation on glucose homeostasis during and after exercise. **Journal of Applied physiology**, v. 99, p. 1858-1865, 2005

JAIN, N. C. **Shalm's Veterinary hematology. Philadelphia.** 4<sup>a</sup> ed. P.1221. 1986

JIN, S.; WHITE, E.. Role of autophagy in Carcer: management of metabolic stress. **Autophagy.** v. 3, n.1, p. 28-31, 2007.

KANA, U; TORU, T; KAZUYOSHI, I; et. al. Prevention of Hemorrhagic Shock-Induced Intestinal Tissue Injury By Glutamine Via Heme Oxygenase-1 Induction. **Basic Science Aspect**, v. 31 p. 40-49, 2009.

KANEKO, J.J., HARVEY, J.W., BRUSS, M.L. (Eds.) **Clinical Biochemistry of Domestic Animals.** San Diego: Academic Press, 1997.

KENNEL CLUB. Confederação Brasileira de Cinofilia Fédération Cynologique. 2004 Internationale disponível em <<http://www.cbkc.com.br/padroes/pdf/grupo10/greyhound.pdf>> acessado 10/12/2011.

KOUTINAS A.F., POLIZOPOULOU Z.S., BAUMGAERTNER W., LEKKAS S. & KONTOS V. Relation of clinical signs to pathological changes in 19 cases of canine distemper encephalomyelitis. **Journal of Comparative Pathology**. V.126:47-56, 2002

KROEMER G, POUYSSEGUR J. Tumor Cell Metabolism: Cancer's Achilles' Heel. **Cancer Cell**, v. 13, n° 6, p. 472-482, 2008.

LAPPING, M.R. Diagnóstico laboratorial das doenças infecciosas. In: NELSON, R.W e COUTO, C.G. Medicina Interna de Pequenos Animais. 3° Ed. p. 1193-1202, 1998.

LI, J.; LANGAMP-HENKEN, B.; SUZUKI, K. et. al. Glutamine prevents parenteral nutrition-induced increases in intestinal permeability. **J. Parenter. Enter. Nutr.**, v. 18, p.303-307, 1994.

LOBLEY, G. E.; HOSKIN, S.O.; MCNEIL, C.J. Glutamine in animal science and production. **Journal of Nutrition**. V. 131, p.255s-2531s, 2001.

MACEDO, D.R; ALMEIDA, E. C. P; RIBEIRO, R. L. o uso da glutamina na terapia nutricional no transplante de medula óssea: artigo de revisão. **Saúde em revista**, v. 3 (1) p. 44-56, 2008.

MAEDE, Y.; KASAI, N.; TANIGUCHI, N. Hereditary high concentration of glutathione in canine erythrocytes associated with accumulation of glutamate, glutamine, and aspartate. **Blood**, v.59, n. 5, p. 883-889, 1984.

MANSO FILHO, H.C.; MCKEEVER, K.H.; GORDON, M.E.; COSTA, H.E.C.; LAGAKOS, W.S.; WATFORD, M. Changes in glutamine metabolism indicate a mild catabolic state in the transition mare. **Journal of animal science**. V.86, 3424-3431, 2008.

MARCHINI, J.S.; NGUYEN, P.; DESCHAMPS, J-Y.; MAUGERE, P.; KREMPE, M.; DARMAUN. **Effect of intravenous glutamine on duodenal mucosa protein synthesis in healthy dogs.** v.276., p. E747-E753, 1999.

MARTINS, A. M. C.R. P. F. Metabolismo da glutamina na célula tumoral. **Arq. Inst.biol.**, São Paulo, v. 70, n.2,p.231-237,2003.

MARUYAMA, Y.; PEREIRA, E.; MARGOLSKEE, R. F.; CHAUDHARI, N.; ROPER, S. D. Umami response in mouse taste calls indicate more than one receptor. **J. Neurosci**, v. 26 (8), p. 2227-2234, 2006.

McARDLE, A.H. Protection from radiation injury by elemental diet: does added glutamine changes the effect? *Gut*, Suplemento 1, p. S60-S64, 1994;

MEDINA, M. Glutamine and cancer. **Journal of Nutrition**, v. 131 p. 2539s-2542s, 2001.

NAKASU, C.C.T.; CAMPÊLO, M.S.; GIL, L.A.F.; RIBEIRO, C.L.G.; MEINERZ, A.R.M. Relação dos Índices de Fibrinogênio e Contagem de Leucócitos: Auxílio de Diagnóstico em Cães Atendidos no HCV-UFPEL. **38º conbravet**, 2011. Disponível<<http://www.sovergs.com.br/site/38conbravet/resumos/826.pdf>> acessado em 30/12/11.

NEU, J.; DEMARCO, V.; LI, N Glutamine: Clinical applications and mechanisms of action. **Current Opinion in Clinical Nutrition Metabolic Care**. V. 5, p. 69-75, 2002.

NEWSHOLME, P. Why is L-glutamine metabolism important to cells of the immune system in health, postinjury, surgery or infection?.**Journal of Nutrition**. V. 131, p.2515s-2522s, 2001.

OGILVIE, G. K.; ROBINSON, N. G. Terapia complementar/alternativa do câncer-fato ou ficção? In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Tratado de medicina interna veterinária doenças do cão e do gato**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 384-393, 2004.

OGILVIE, G. K; VAIL, D. M. WHEELER, S. L. Alterations in fat and protein metabolism in dogs with cancer. **Proceedings of veterinary Cancer Society**. p. 31, 1998.

OLSON, L. B-naturals.com: L-Glutamine, a Powerful Amino Acid, 2006. Disponível em: <[http://www.b\\_naturals.com/newsletter/l\\_glutamine](http://www.b_naturals.com/newsletter/l_glutamine)> acessado em: 15 de Nov. 2010.p.846, 2007.

PALANCH, A.C. Metabolismo da Gluamina no Intestino. In: CURI, R. **Glutamina: metabolismo e aplicações clínicas e no esporte**. Rio de janeiro:sprint. p. 65-85, 2000.

PARRY-BILLINGS, M.; LEIGHTON, B.; DIMITRIADIS, G.; VASCONCELOS, P. R. L.; NEWSHOLME, E. A. Skeletal muscle glutamine metabolism during sepsis in the rat. **Int. J. Biochem.**, v.21, p.419-423, 1989.

PERES, C.M.; OTTON, R.; CURI, R. Glutamina e linfócitos. In CURI, R. **Metabolismo e aplicações clínicas e no esporte**. Rio de janeiro:sprint. p.177-188, 2000.

POMPÉIA, C. Glutaminase (E.C.3.5.1.2) ou l-glutamina: amido-hidrolase. In: CURI, R. Glutamina: metabolismo e aplicações clínicas e no esporte. Rio de janeiro:sprint. p. 17-65, 2000.

REEDS, P.J, BURRIN D.G, DAVIS, T.A , FIOROTTO, M.L, STOLL, B, GOUDOEVER, J.B.V. Protein nutrition of the neonate. **Proc Nutr Soc**. p.59:87-97, 2000.

ROGERO, M. M.; PEDROSA, R. G.; TIRAPEGUI, J.; CASTRO, I.A.; PIRES, I. S. O. Effect of L-alanyl-Lglutamine supplementation on plasma, liver and muscle concentration of glutamine in rats submitted exhaustive exercise. **Nutrition**, v.22, p.564-571, 2006.

ROGERO, M. M.; TIRAPEGUI, J. Aspectos atuais sobre glutamina, atividade física e sistema imune. **Rev. Bras. Cienc.Farm.**, v.36, p.201-212, 2000.

ROGERO, M. M.; TIRAPEGUI, J.; PEDROSA, R. G.; CASTRO, I. A.; PIRES, I. S. O. Plasma and tissue glutamine response to acute and chronic supplementation with L-glutamine and L-alanyl-L-glutamine in rats. **Nutr.Res.**, v.24, p.261-270, 2004.

ROUDEBUSH, P; DAVENPORT, D.J; NOVOTNY, B. J. The use of nutraceuticas in cancer therapy. **The Veterinary Clinics – Small Animal Practice**, v. 34, p. 249-269, 2004.

SANTOS, V.M.; CUNHA, S.F.C.; CUNHA, D.F. Velocidade de sedimentação das hemácias: utilidade e limitações. **Rev. Assoc. Med. Bras.** v.46, n.3, 2000.

SEYMOUR, J.F. TALPAZ, M.; HAGEMEISTER, F.B.; CABANILLAS, F.; KURZROCK, R. Clinical correlates of elevated serum levels of interleukin 6 in patients with untreated Hodgkin's disease. **Am J Med**; v. 102:21-28, 1997.

SMITH, R. J; WILMORE, D.W. Glutamine nutrition and requirements. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 14 (supl, 4), p.45s-50s, 1990.

SOUBA, W.W. Glutamine and Cancer. **Annals of Surgery.** v. 218, Nº. 6, p.715-728, 1993.

SPIVAK, J.L. The anemia of cancer: Death by a thousand cuts. **Nature Reviews – Cancer**, v.5, p.555, 2005.

STIPANUK, M.H.; WATFORD, M. Amino acid metabolism. In: **Biochemical, Physiological & Molecular Aspects of Human Nutrition** (M.H. Stipanuk, ed.), Saunders/Elsevier, St. Louis, p. 320-418, 2006.

STROTTMANN, D.M. et al. Diagnóstico e estudo sorológico da infecção pelo parvovírus canino em cães de Passo Fundo, Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v.38, n.2, Mar/Abr, p.400-405, 2008.

SZELIGA, M.; OBARA-MICHLEWSKA, M. Glutamine in neoplastic cells: focus on the expression and roles of glutaminases. **Neurochemistry Internacional.** V. 55, p. 71-75, 2009.

TENNANT, B. Feeding the sick animal. In: KELLY, N.C e WILLS, J. (Eds). Manual of companion Animal nutricion e Feeding lowa: BSAVA, p. 181-187. 1996.

TOYOMASU, Y.; MOCHIKI, E.; YANAI, M.; OGATA, K.; TABE, Y.; ANDO, H.; OHNO, T.; AIHARA, R.; ZAI, H.; KUWANO, H. Intra gastric monosodium L-glutamate stimulates motility of upper gut via vagus nerve in conscious dogs. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol** v. 298: R1125–R1135, 2010.

WAGENMAKERS, A. J. M. Muscle amino acid metabolism at rest and during exercise: role in human physiology and metabolism. **Exercise and Sports Science Reviews** v 26, p. 287-315, 1998.

WAGENMAKERS, A.J.M. Protein and amino acid metabolism in muscle. In: RICHETI, et al. Skeletal Muscle Metabolism in Exercise and diabetes. **Plenum Press, New York**, p.307-319, 1998a.

WASH, L.H.; BLANNIN, A. K.; ROBSON, P.J.; GEESON, M. Glutamine, exercise and immune function: links and possible mechanisms. **Sports Med.**, v. 26, p. 177-191, 1998.

WEETH, L. H; FASCETTI, A. J; KASS, P. H. SUTER, S. E.; SANTOS, A. M; DELANEY, S. J. Prevalence of obese dogs in population of dogs with cancer. **American Journal of Veterinary Research**, v. 68, p. 368-398, 2007.

WEISS, R. R.; CALOMENO, M. A.; SOUSA, R. S.; BRIERSDORF, S. M.; CALOMENO, R. A.; MURADÁS, P. Avaliação Histopatológica, Hormonal e Bacteriológica da Piometra na Cadela. **Archives of Veterinary Science**. v. 9, n. 2, p. 81-87, 2004.

WILLARD, M.D. Distúrbio do Sistema Digestivo. In: NELSON, R.W e COUTO, C.G. **Medicina Interna de Pequenos Animais**. 3º Ed. p.335-354, 1993.

WISE, D.R.; THOMPSON, C.B. Glutamine addiction: a new therapeutic target in cancer. **Trends Biochemistry Science**, v. 35, n. 8, p. 427-433, 2010;

WITHROW, S. In Withrow SJ, Macewen EG. Small Animal Oncology. (3rd Edition) Filadelfia W.B. Saunders Company: 2001.

WITHROW, S.J.; MACWEN, E.G. Small Animal Clinical Oncology; St. Louis, p.846, 2007.  
WLLIARD, M.D.; Distúrbio do sistema digestivo. In: NELSON, R.W e COUTO, C.G. **Medicina interna de pequenos animais**. 3ª Ed., p. 335-354, 1991.

YAMOMOTO, S.; SHIDA, T., MYAJI, S., SANTSUKA, H., FUJISE, H., MUKAWA, K., et. al. Chances en serum C-reactive proteins levels in dogs with various disorders and surgical traumas. **Veterinary Research Communications**, v. 17, p. 230-239, 1993.

YI, G.F.; FIELD, C.J.; MCBURNEY, M.I. Effect of glutamine and spray-dried plasm on growth performace, small intestinal morphology, and immune response of Escherichia coli k88- Challenged weaned pigs. **Journal of Animal Science**, v. 83, p.634-643, 2005.



## Anexo 2

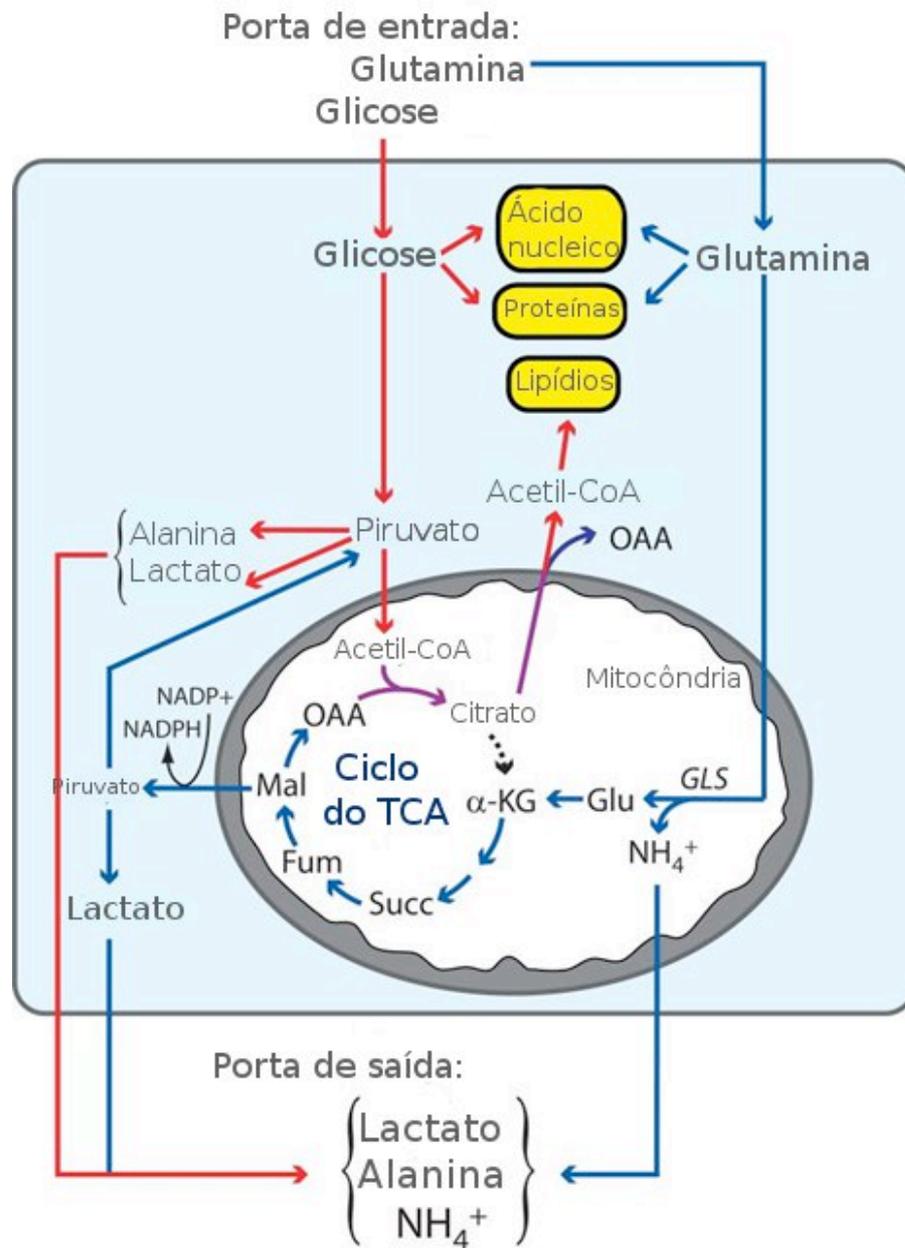


Figura 2. Metabolismo da glutamina e glicose sugerido para as células neoplásicas.

Fonte: DeBerardinis e Cheng, 2009. Adaptado.



## Anexo 4

**Quadro 1.** Localização e resultado dos exames citológicos nos animais do grupo 3 – animais enfermos com neoplasia.

<b>Nº da amostra</b>	<b>Hipótese diagnóstica</b>	<b>Exame citológico</b>
1	Tumor de mama	Tumor Mamário Misto
2	Tumor de mama	Tumor de Células Mesenquimais
3	Tumor de mama	Não realizado
4	Tumor de mama, vulva	Tumor Misto
5	Tumor de mama	Carcinossarcoma
6	Tumor de mama	Carcinoma
7	Tumor de mama	Tumor Misto
8	Tumor de mama	Carcinoma
9	Tumor no prepúcio	TVT
10	Tumor de mama	Adenocarcinoma + Processo Inflamatório Supurado
11	Tumor de mama	Carcinoma
12	Tumor de mama	Não realizado
13	Tumor de mama	Mastocitoma Múltiplo
14	Tumor de mama	Carcinossarcoma
15	Tumor de mama	Tumor Misto
16	Tumor de mama	Processo Inflamatório Supurado
17	Tumor de mama, metástase pulmonar	Carcinoma
18	Tumor de ouvido	Tumor Mesenquimal
19	Tumor de mama	Carcinossarcoma
20	Tumor de abdômen	Não realizado
21	Tumor de mama, vulva, piometra, erlichia	Carcinoma, Vulva Processo Inflamatório
22	Tumor em membro, vulva	Inconclusivo
23	Tumor de mama	Carcinossarcoma
24	Tumor de mama	Nódulo cístico: Lipoma/ Nódulo Duro: Carcinoma
25	Tumor de mama	Tumor Mesenquimal Maligno
26	Tumor de ouvido	Carcinoma de Células Escamosas
27	Tumor de mama	Carcinoma Mal Diferenciado
28	Tumor no Testículo	Processo Inflamatório Supurado

Continuação		
29	Tumor de mama, Tumor de pele	Mastocitoma com Processo Inflamatório Supurado
30	Linfoma	Material Insuficiente
31	Tumor em membro	Inconclusivo
32	Tumor em membro	Processo Inflamatório Supurado
33	Tumor de mama	Carcinoma Mal Diferenciado
34	Tumor de mama	Material Insuficiente
35	Tumor de mama	Material Insuficiente
36	Tumor de mama	Não realizado
37	Tumor no globo ocular	Não realizado
38	Tumor de mama	Não realizado
39	Tumor de mama	Tumor Misto
40	Tumor de mama	Não realizado
41	Tumor de mama	Material Insuficiente
42	Tumor de mama	Não realizado
43	Tumor de mama	Não realizado
44	Tumor de pele	Lipoma
45	Tumor de mama	Não realizado
46	Tumor de mama	Tumor Misto

## Anexo 5

**Quadro 2** Ocorrência das neoplasias e resultado dos exames citológicos nos animais do grupo 3 - animais enfermos com neoplasia.

<b>Hipótese diagnóstica (n= 46)</b>	<b>Citologia</b>
	Misto 17,14%
	Tumor de Célula mesenquimal ~5,71%
	Carcinossarcoma ~11,43 %
	Carcinoma ~17,14%
<b>Neoplasia Mamaria (n=35)</b>	Adenocarcinoma ~2,36%
	Mastocitoma múltiplo ~5,71%
	Lipoma 2,36%
	Carcinoma mal diferenciado ~5,71%
	Não realizado, amostra insuficiente, processo inflamatório, inconclusivo ~22,86%
<b>Neoplasia no prepúcio/vulva (n=4)</b>	TVT ~100%
<b>Neoplasia auricular (n=2)</b>	Carcinoma das células escamosas ~ 50%
	Tumor mesenquimal ~50%
<b>Neoplasia de pele (n=2)</b>	Mastocitoma com processo inflamatório supurado 50%
	Lipoma ~50%
<b>Neoplasia de membro (n=3)</b>	Processo inflamatório e inclusivo ~100%
<b>Linfoma (n=1)</b>	Material insuficiente ~100%
<b>Neoplasia do globo ocular (n=1)</b>	Não realizado ~100 %
<b>Metástase (n=1)</b>	

Obs.: Alguns animais apresentam mais de uma hipótese diagnóstica.

**Anexo 6**

**Quadro 3** Hipótese diagnóstica dos animais do grupo 4 - animais enfermos com doença infecciosa grave.

<b>Nº da amostra</b>	<b>Hipótese diagnóstica</b>
1	Cinomose
2	Cinomose
3	Cinomose
4	Gastroenterite
5	Parvovirose
6	Parvovirose
7	Piometra
8	Gastroenterite
9	Gastroenterite
10	Gastroenterite
11	Gastroenterite
12	Piometra
13	Cinomose, gastroenterite
14	Gastroenterite
15	Gastroenterite
16	Gastroenterite
17	Piometra
18	Gastroenterite, verminose, ascite
19	Piometra, convulsão

**Anexo 7**

**Quadro 4** Incidências das doenças infecciosas dos animais do grupo  
4 - animais enfermos com doença infecciosa grave.

<b>Hipótese diagnóstica (19)</b>
Cinomose ~21,05%
Gastroenterite ~ 52,63
Parvovirose ~10,52
Piometra ~21,05

Obs.: Alguns animais que apresentam mais de uma hipótese diagnóstica.