

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**METABOLISMO VISCERAL EM OVINOS: CUSTO  
ENERGÉTICO ASSOCIADO AO NÍVEL DE CONSUMO  
E AO METABOLISMO HEPÁTICO DE COMPOSTOS  
NITROGENADOS**

**TESE DE DOUTORADO**

**Fernanda Hentz**

**Santa Maria, RS, Brasil.**

**2013**

**METABOLISMO VISCERAL EM OVINOS: CUSTO  
ENERGÉTICO ASSOCIADO AO NÍVEL DE CONSUMO E  
AO METABOLISMO HEPÁTICO DE COMPOSTOS  
NITROGENADOS**

**Fernanda Hentz**

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Área de Concentração Produção Animal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Zootecnia.**

**Orientador: Prof. Dr. Gilberto Vilmar Kozloski**  
**Co-orientador: Prof. Dr. Paulo Alberto Lovatto (*in memoriam*)**

**Santa Maria, RS, Brasil.**

**2013**

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Hentz, Fernanda  
Metabolismo visceral em ovinos: custo energético associado ao nível de consumo e ao metabolismo hepático de compostos nitrogenados / Fernanda Hentz.-2013.  
99 p.; 30cm

Orientador: Gilberto Vilmar Kozloski  
Coorientador: Paulo Alberto Lovatto  
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, RS, 2013

1. Metabolismo visceral 2. Gasto de energia 3. Nível de consumo 4. Compostos nitrogenados 5. Gliconeogênese, ureagênese I. Kozloski, Gilberto Vilmar II. Lovatto, Paulo Alberto III. Título.

---

© 2013

Todos os direitos autorais reservados a Fernanda Hentz. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita mediante a citação da fonte.

E-mail: fer.hentz@gmail.com

---

**Universidade Federal de Santa Maria  
Centro de Ciências Rurais  
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,  
aprova a Tese de Doutorado

**METABOLISMO VISCERAL EM OVINOS: CUSTO ENERGÉTICO  
ASSOCIADO AO NÍVEL DE CONSUMO E AO METABOLISMO  
HEPÁTICO DE COMPOSTOS NITROGENADOS**

elaborada por  
**Fernanda Hentz**

como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Doutor em Zootecnia**

**COMISSÃO EXAMINADORA:**

---

**Gilberto Vilmar Kozloski, Dr.**  
(Presidente/Orientador)

---

**Jorge Luiz Berto, Dr. (UFFS)**

---

**José Luis Repetto, Dr. (UdelaR, Uruguay)**

---

**Lisandre de Oliveira, Dr. (UNIJUÍ)**

---

**Márcio Nunes Corrêa, Dr. (UFPEL)**

Santa Maria, 26 de agosto de 2013.

À Deus,  
pela **vida**,

OFEREÇO

Aos meus pais  
José Henrique e Wilma  
e aos meus irmãos Fernando e Carla,  
por seu amor, carinho e imensa dedicação,

DEDICO

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Santa Maria e ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia por me propiciar a realização do Doutorado.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa – CNPq pela concessão da bolsa de estudos e recursos disponibilizados na forma de taxa de bancada.

Ao Prof. Gilberto V. Kozloski pelo grande orientador que és. Por nos ensinares que docência e pesquisa necessitam ser feitas com dedicação e honestidade. Também pelo apoio e encorajamento, especialmente neste período difícil da minha vida.

Ao Prof. Paulo A. Lovatto (*in memoriam*) pela co-orientação, incentivo e ensinamentos transmitidos.

A Madame Isabelle Ortigues-Marty, merci pour m'avoir acceptée sur votre Équipe Nutriments Et Métabolismes de l'Institut National de la Recherche Agronomique – INRA, Unité de Recherches sur les Herbivores, bien que cette période avec vous n'ait pas pu avoir lieu.

Aos Prof. avaliadores deste trabalho, Jorge Luiz Berto, José Luis Repetto, Lisandre de Oliveira e Marcio Nunes Corrêa, que gentil e sabiamente contribuíram para o aprimoramento desta tese.

A toda minha família pelo apoio, amor e encorajamento.

Ao colega de doutorado Diego Zeni pela imensa ajuda no estabelecimento e condução dos experimentos, amizade e companheirismo.

Aos amigos e colegas de laboratório: Roberta Farenzena, Suélen C. de Àvila, Mariana P. Mezzomo, Simone Stefanello, Thais R. Longo, Tiago Orlandi, Cristiano M. Stefanello, Marcelo Gindri, Pablo S. Castagnino e Filipe Zanferari pela ajuda, agradável convivência e amizade.

À Analia P. Ruchel e Carla J. Härter pela valiosa amizade e apoio em todos os momentos.

Ao pessoal da casa 90 e alguns mais já considerados da casa! Vocês são especiais.

## RESUMO

Tese de Doutorado  
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia  
Universidade Federal de Santa Maria

### **METABOLISMO VISCERAL EM OVINOS: CUSTO ENERGÉTICO ASSOCIADO AO NÍVEL DE CONSUMO E AO METABOLISMO HEPÁTICO DE COMPOSTOS NITROGENADOS**

AUTORA: Fernanda Hentz

ORIENTADOR: Gilberto Vilmar Kozloski

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 26 de agosto de 2013.

Foi avaliado o efeito do nível de consumo de forragem sobre o fluxo de sangue e utilização de O<sub>2</sub> (Experimento 1), e da infusão mesentérica de bicarbonato de amônio (NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>), L-alanina ou L-arginina (Experimento 2) sobre a utilização de O<sub>2</sub> e fluxo de metabólitos pelo sistema visceral (tecidos drenados pela veia porta (TDVP) e o fígado) em ovinos implantados cirurgicamente com catéteres permanentes nas veias mesentérica, porta e hepática. Em ambos experimentos o fluxo de sangue foi estimado pela técnica de diluição de *p*-aminohipurato. No experimento 1, três ovinos machos da raça Polwarth (42±4.4 kg de peso corporal (PC), alojados em gaiolas de metabolismo e alimentados com feno de Tifton (*Cynodon* sp.) foram utilizados em um delineamento Quadrado Latino 3 x 3. O feno foi oferecido nas quantidades de 7, 14 ou 21 g matéria seca (MS)/dia/kg de PC em quatro porções diárias iguais, a cada 6 h. O fluxo de sangue nos TDVP aumentou linearmente (P<0,05), mas o fluxo de sangue hepático-arterial e visceral total não foram afetados pelo aumento no consumo de forragem. O gasto de O<sub>2</sub> pelos TDVP foi positivamente (P<0,05) relacionado com o consumo de matéria orgânica (MO). O gasto de O<sub>2</sub> relacionou-se linearmente com o fluxo de sangue (P<0,05) nos TDVP, fígado e sistema visceral. A proporção de energia metabolizável (EM) consumida gasta como calor pelos TDVP e fígado diminuiu com o aumento no consumo de EM de forma curvilínea, sendo que a diferença entre a produção de calor visceral e dos TDVP reduziu com o aumento no consumo de EM. No experimento 2, quatro ovinos Corriedale (40 ± 3.8 kg PC), implantados com catéteres permanentes nas veias mesentérica, porta e hepática, alimentados com 14 g MS de feno de aveia (*Avena sativa*) e azevém (*Lolium multiflorum* Lam)/dia/kg de PC, foram utilizados em um delineamento Quadrado Latino 4 x 4. Os tratamentos consistiram da infusão na veia mesentérica de 500 µL/min de solução salina (controle) ou de uma solução contendo NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>, L-alanina ou L-arginina. Os fluxos portal e visceral total líquido de glicose e N-uréia não foram afetados significativamente pelos tratamentos. O fluxo de O<sub>2</sub> pelos TDVP não diferiu entre tratamentos. Contudo, houve maior (P<0,05) gasto de O<sub>2</sub> pelo fígado no tratamento controle. A hipótese de que a ureagênese e/ou a neoglicogênese impactam o gasto de energia pelo fígado não foi comprovada no presente estudo. Aspectos metodológicos são considerados na discussão destes resultados.

**Palavras-chave:** Fígado. Neoglicogênese. Nível de consumo. Oxigênio. TDVP. Ureagênese.

## ABSTRACT

Doctoral Thesis  
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia  
Universidade Federal de Santa Maria

### **SPLANCHNIC METABOLISM IN SHEEP: ENERGETIC COSTS ASSOCIATED TO FEED INTAKE LEVEL AND HEPATIC METABOLISM OF NITROGENOUS COMPOUNDS**

AUTHOR: Fernanda Hentz  
ADVISER: Dr. Gilberto Vilmar Kozloski  
Presentation Place and Date: Santa Maria, 26 de agosto de 2013.

The effect of level of forage intake on blood flow and oxygen consumption (Experiment 1), and mesenteric infusion of ammonium bicarbonate ( $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ ), L-alanine or L-arginine on oxygen consumption and net flux of metabolites (Experiment 2) through the splanchnic (portal-drained viscera [PDV] plus liver (ST)) tissues were evaluated in sheep surgically implanted with chronic indwelling catheters into the mesenteric, portal and hepatic veins. In both experiments, blood flow was estimated by downstream dilution of *p*-aminohippurate. In experiment 1, three adult male Polwarth wethers ( $42 \pm 4.4$  kg body weight (BW)), housed in metabolism cages and offered Tifton (*Cynodon* sp.) hay were used in a 3 x 3 Latin Square design. Treatments consisted of hay allowances of 7, 14 or 21 g dry matter (DM)/kg BW/day, offered in four equal daily meals, every 6 h. Blood flow across PDV was linearly ( $P < 0.05$ ) related to OM intake, whereas the hepatic-arterial and total ST blood flow were not affected. Oxygen expenditure by PDV was directly ( $P < 0.05$ ) related to OM intake, while oxygen consumption by the liver was not affected. Oxygen expenditure was linearly ( $P < 0.05$ ) related to blood flow across tissues for PDV, liver and total ST. The proportion of metabolizable energy (ME) intake spent as heat by PDV and total ST reduced when ME intake increased. In addition, this reduction occurred in a curvilinear manner as the difference between PDV and ST heat production reduced at increased ME intake. In experiment 2, four multicatheterized Polwarth wethers ( $40 \pm 3.8$  kg BW) fed 14 g DM of oat (*Avena sativa*) plus ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam) hay/kg BW/day of Tifton hay were used in a 4 x 4 Latin Square design. Treatments were mesenteric vein infusion of 500  $\mu\text{L}/\text{min}$  of saline solution (control) or a solution containing  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ , L-alanine or L-arginine. The net flux of glucose and urea through PDV and ST were not affected by treatments. Portal appearance and liver removal of N-NH<sub>3</sub> were higher ( $P < 0.05$ ) with the  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  infusion. The PDV and ST net flux of oxygen were not affected by treatments, whereas the hepatic oxygen consumption was higher in control treatment ( $P < 0.05$ ). The hypothesis that ureagenesis and/or gluconeogenesis increases hepatic energy expenditure was not observed in the present study. Methodological aspects are included in results discussion.

**Key words:** Gluconeogenesis. Intake level. Liver. Metabolism. Oxygen consumption. PDV. Ureagenesis.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 – Representação esquemática da anatomia vascular do sistema visceral nos ruminantes (adaptado de Kraft, 2009) ..... 16
- Figura 2 – Representação dos sítios de implantação de catéteres ( ) no sistema visceral em ruminantes. (adaptado de Lindsay e Reynolds, 2005). ..... 19
- Figura 3 – Transporte de glicose para os enterócitos.....35
- Figura 4 – Representação esquemática da rota neoglicogênica. Adaptado de Nelson e Cox (2004).....36
- Figura 5 – Representação esquemática do Ciclo da Uréia e sua ligação com o Ciclo de Krebs. Adaptado de Nelson e Cox (2004) .....40
- Figura 6 – Relação entre o nível de consumo de matéria orgânica (MO) e o fluxo de sangue (---○) portal;  $y = 54,1 + 0,075x$ ,  $R^2 = 0,58$ , hepático-arterial;  $y = 42,2 + 0,01x$ ,  $R^2 = 0,01$  e visceral total;  $y = 99,8 + 0,06x$ ,  $R^2 = 0,25$ ) (Painel A), e entre consumo de MO e utilização de  $O_2$  (\_\_\_◆) pelos tecidos drenados pela veia porta (TDVP);  $y = 891 + 1,54x$ ,  $R^2 = 0,44$ ; fígado,  $y = 2239 + 0,35x$ ,  $R^2 = 0,01$  e tecidos viscerais;  $y = 3134 + 1889x$ ,  $R^2 = 0,24$ ) (Painel B), em ovinos ( $n=12$ ) alimentados com feno de *Cynodon sp.* ..... 53
- Figura 7 – Relação entre o fluxo de sangue e consumo de  $O_2$  pelos tecidos drenados pela veia porta (TDVP), fígado e tecidos viscerais em ovinos ( $n=12$ ) alimentados com feno de *Cynodon sp.* .....54
- Figura 8 – Relação entre o consumo de energia metabolizável (EM) e produção de calor ( $H$ ) pelos tecidos drenados pela veia porta (TDVP,▲) e tecidos viscerais (TV,□) em ovinos ( $n=12$ ) alimentados com feno de *Cynodon sp.* Os dados nos quais os cálculos foram baseados são o consumo de energia digestível (CED, kcal/dia), calculado a partir do consumo de matéria orgânica digestível (CMOD, g/dia) como:  $CMOD \times 4,409$ , o consumo de EM (CEM, kcal/dia) calculado como:  $CEM \times 0,82$  e a produção de calor (kcal/dia) calculada assumindo um equivalente  $H$  de 4,89 kcal/L de  $O_2$  consumido. ....55
- Quadro 1 – Funções do fígado (adaptado de Nelson e Cox, 2004) ..... 17

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Gasto de energia em funções envolvidas na manutenção.....	25
Tabela 2 – Valores médios publicados de consumo de oxigênio <i>in vitro</i> relacionado à atividade de $\text{Na}^+.\text{K}^+\text{ATP}^{\text{ase}}$ em tecidos do sistema visceral. ....	26
Tabela 3 – Efeito do nível de consumo sobre o uso <i>in vitro</i> de oxigênio relacionado à atividade de $\text{Na}^+.\text{K}^+\text{ATPase}$ , em tecidos do sistema visceral. ....	27
Tabela 4 – Utilização de $\text{O}_2$ na ciclagem de substratos nos hepatócitos. ....	32
Tabela 5 – Gasto de energia em atividades metabólicas no trato gastrointestinal e fígado. Modificado de McBride e Kelly, (1990). ....	33
Tabela 6 – Efeito do nível de consumo sobre o gasto de energia nos TDVP e fígado (% do consumo total de $\text{O}_2$ corporal). ....	43
Tabela 7 – Concentração de bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ), pH e pressão de $\text{CO}_2$ ( $\text{pCO}_2$ ) no sangue arterial e fluxo de sangue portal, arterial e hepático em ovinos infundidos com bicarbonato de amônia ( $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ ), alanina e arginina. ....	69
Tabela 8 – Concentração plasmática arterial, portal e hepática de oxigênio, glicose, N-amônia ( $\text{NH}_3$ ) e N-uréia em ovinos infundidos com bicarbonato de amônia ( $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ ), alanina e arginina. ....	70
Tabela 9 – Fluxo líquido de glicose, N-amônia (N- $\text{NH}_3$ ) e N-uréia através dos tecidos drenados pela veia porta (TDVP), fígado e tecidos viscerais totais (TV) em ovinos infundidos com bicarbonato de amônia ( $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ ), alanina e arginina.....	71
Tabela 10 – Fluxo líquido de oxigênio e produção de calor pelos tecidos drenados pela veia porta (TDVP), fígado e tecidos viscerais totais (TV) em ovinos infundidos com bicarbonato de amônia ( $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ ), alanina e arginina. ....	72

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>12</b>
<b>2 ESTUDO BIBLIOGRÁFICO .....</b>	<b>15</b>
2.1 Caracterização do sistema visceral .....	15
2.1.1 Tecidos drenados pela veia porta (TDVP).....	15
2.1.2 Fígado .....	15
2.2 Balanço de nutrientes em um tecido ou grupo de tecidos: aspectos metodológicos .....	18
2.2.1 Preparação cirúrgica .....	19
2.2.2 Medida do fluxo sanguíneo e de nutrientes.....	20
2.3 Metabolismo do sistema visceral .....	22
2.3.1 Oxigênio .....	22
2.3.2 Glicose .....	34
2.3.3 Compostos nitrogenados.....	37
2.4 Efeito do nível de consumo sobre o gasto de energia pelo sistema visceral.....	39
<b>CAPÍTULO 1 .....</b>	<b>45</b>
<b>AVALIAÇÃO DO EFEITO DO NÍVEL DE CONSUMO SOBRE O METABOLISMO ENERGÉTICO VISCERAL.....</b>	<b>46</b>
RESUMO.....	46
ABSTRACT .....	47
INTRODUÇÃO .....	48
MATERIAL E MÉTODOS .....	48
Animais, dieta e tratamentos.....	48
Análises químicas .....	50
Cálculos .....	51
Análise estatística .....	52
RESULTADOS .....	52
DISCUSSÃO .....	55
CONCLUSÃO.....	58
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	59
<b>CAPÍTULO 2 .....</b>	<b>61</b>
<b>AVALIAÇÃO DO EFEITO DA INFUSÃO MESENTÉRICA DE BICARBONATO DE AMÔNIO, ALANINA E ARGININA SOBRE O METABOLISMO HEPÁTICO .....</b>	<b>62</b>
RESUMO.....	62
ABSTRACT .....	63
INTRODUÇÃO .....	64
HIPÓTESES.....	64
MATERIAL E MÉTODOS .....	65
Animais, dieta e tratamentos.....	65
Coleta de amostras .....	66
Análises químicas .....	67
Cálculos .....	67

Análise estatística .....	68
RESULTADOS .....	68
DISCUSSÃO .....	73
CONCLUSÃO.....	76
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	77
<b>4 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>79</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>81</b>
<b>APÊNDICES .....</b>	<b>93</b>

# 1 INTRODUÇÃO

A qualidade dos alimentos para ruminantes, particularmente dos volumosos, depende entre outros fatores, do consumo voluntário, da digestibilidade e da eficiência da utilização dos nutrientes e/ou da EM ingerida (REID, 1994). A eficiência do uso da EM tem sido condicionada a variações no potencial genético do animal, da sua condição fisiológica ou do perfil de nutrientes absorvidos. Parte significativa da energia metabolizável ingerida é utilizada pelos tecidos que constituem o sistema visceral dos animais, sendo esta proporção variável e influenciada por vários fatores, incluindo tipo de dieta e nível de consumo (REYNOLDS et al., 1991b; GOETSCH et al., 1997; GOETSCH, 1998; KOZLOSKI et al., 2003).

O sistema visceral é representado pelo sistema portal mais o fígado. O sistema portal, por sua vez, é representado pelo trato gastrointestinal (rúmen, retículo, omaso, abomaso e intestinos), pâncreas, baço e tecido adiposo mesentérico. Após ingerido, o alimento sofre uma série de processamentos físicos e químicos ao longo do trato gastrointestinal de modo que estruturas complexas constituintes do alimento são degradadas a unidades moleculares mais simples e passíveis de serem absorvidas para a corrente sanguínea. Esse processo (i.e., digestão e absorção) é a primeira etapa da extração de substratos e água do alimento, necessários para suprir a demanda do organismo animal. Numa segunda etapa, com exceção dos lipídios, todos os demais nutrientes absorvidos são transportados através do sistema venoso portal diretamente para o fígado. O fígado também capta nutrientes e metabólitos do sangue arterial que são provenientes dos tecidos periféricos e, em contrapartida, fornece uma variedade de moléculas que são substratos para os demais tecidos do organismo (SEAL E REYNOLDS, 1993).

Desse modo, os tecidos gastrintestinais representam, desse modo, uma interface entre a dieta e o animal, tendo uma influência direta no fluxo de nutrientes do lúmen para a corrente sanguínea. O fígado, por sua vez, constitui-se no órgão central que reúne os nutrientes absorvidos e os metabólitos procedentes da circulação geral, moderando-os e distribuindo-os para os tecidos periféricos.

As funções exercidas por esse conjunto de órgãos viscerais têm, no entanto, um custo energético e proteico significativo e variável, seja pelas proporções e tipos

de substâncias são metabolizadas pelos tecidos que os compõe, seja pelas reações envolvidas, como oxidação para obtenção de energia, transformação ou síntese de outros compostos (HUNTINGTON e REYNOLDS, 1987; ATTAIX et al., 1988; ATTAIX e RÉMOND, 2005; LINDSAY e REYNOLDS, 2005). Esse custo energético é elevado, visto que a massa do trato gastrointestinal corresponde a somente 5 a 10% da massa corporal total (i.e. peso vivo menos o peso do conteúdo digestivo) e utiliza em torno 20% do oxigênio total utilizado pelo organismo e, o fígado, apesar de representar em torno de 1 a 3% da massa corporal total, utiliza até 40% do oxigênio consumido pelo organismo do animal (HUNTINGTON, 1990).

A quantidade de alimento consumido parece ser um dos fatores mais importantes que afetam o gasto de energia pelo sistema visceral (SEAL e REYNOLDS, 1993). No entanto o efeito do nível de consumo sobre o metabolismo e demanda energética não é o mesmo nas vísceras drenadas pela veia porta e no fígado (REYNOLDS, 1995). No jejum, os tecidos em geral diminuem suas atividades metabólicas em comparação ao fígado, que continua a sintetizar glicose e passa a catabolizar mais aminoácidos e ácidos graxos circulantes. Embora compilações de dados têm sugerido que a utilização de oxigênio pelo sistema visceral tende a aumentar linearmente com o aumento do consumo de alimento (SEAL e REYNOLDS, 1993; REYNOLDS, 1995), não foi encontrado na literatura nenhum estudo delineado especificamente para avaliar e quantificar esse efeito.

Entre os processos que demandam energia pelo fígado, estão a síntese de uréia e a neoglicogênese (MCBRIDE e KELLY, 1990). Baseado na observação de que o consumo excessivo de proteína tende a diminuir a eficiência do uso da energia metabolizável pelos animais, alguns sistemas nutricionais tem descontado da oferta de energia pelo alimento aquela fração associada à síntese hepática de uréia (FOX et al., 2004). Com a infusão de amônia e/ou de aminoácidos na veia mesentérica observou-se incremento na síntese de uréia e, na maioria das vezes, aumento no uso de oxigênio pelo fígado de ovinos (LOBLEY et al., 1995; LOBLEY et al., 1998; MILANO et al., 2000). De fato, a síntese de uréia demanda energia equivalente a 4 ATPs/mol de uréia sintetizada. No entanto, o Ciclo da Uréia resulta também na formação de uma molécula de fumarato. O fumarato, por sua vez, produz um NADH quando é convertido a oxaloacetato, o que equivale à produção de 3 moléculas de ATP. Desse modo, o custo energético líquido da síntese de uréia equivaleria a somente 1 ATP. Com base nisto, foi sugerido que o maior gasto

energético numa condição em que há aumento da síntese de uréia pelo fígado se deve mais ao concomitante aumento da neoglicogênese a partir de aminoácidos como glicina e alanina, do que à síntese de uréia em si (KOZLOSKI, 2011). Esta hipótese, contudo, necessita ser testada e comprovada.

## 2 ESTUDO BIBLIOGRÁFICO

### 2.1 Caracterização do sistema visceral

#### 2.1.1 Tecidos drenados pela veia porta (TDVP)

O sistema portal é compreendido pelo trato gastrointestinal (rúmen, retículo, omaso, abomaso, intestino delgado e intestino grosso), pâncreas, baço e tecido adiposo mesentérico, que juntos, representam 6- 10% da massa corporal (% do peso vazio) em ruminantes (HUNTINGTON, 1990b). Neste sistema, a anatomia vascular (Figura 1) permite identificar dois tipos de tecidos: os drenados pela veia mesentérica e os drenados pela veia porta. Os tecidos drenados pela veia mesentérica são o abomaso e intestino delgado, os quais são alimentados por sangue arterial e o sangue eferente é recolhido nos ramos da veia mesentérica. Os tecidos drenados pela veia porta compreendem os drenados pela veia mesentérica, mais o pâncreas, baço, gordura mesentérica e omental e o intestino grosso. O sangue eferente do rúmen é drenado pela veia ruminal e o do intestino grosso é drenado pela veia ileocecal. As veias ruminal, ileocecal e mesentérica confluem e formam a veia porta, que nos ruminantes, é bastante curta, sendo nos ovinos de 4 -5 cm (SEAL e REYNOLDS, 1993)

#### 2.1.2 Fígado

O fígado é o órgão mais vascularizado do corpo, com sangue compreendendo aproximadamente 25% de sua massa, e, apesar de representar menos de 2% da massa corporal total de um ruminante adulto, recebe em torno de 25% do sangue cardíaco. O fluxo de sangue através do fígado é sensível à nutrição e pode atingir valores de 3 L/min/kg de tecido hepático ou 60 mL/min/kg de PV (LOBLEY et al.,



2000). O fígado tem a particularidade de receber dois tipos de sangues aferentes: um por meio da veia porta (venoso) e outro por meio da artéria hepática (arterial), enquanto que a drenagem do fígado é realizada por ramos da veia hepática o (SEAL e REYNOLDS, 1993). O suprimento principal de sangue, através da veia porta, não é controlado pelo fígado, e permanece inalterado mesmo quando a resistência vascular é aumentada (LOBLEY et al., 2000). Já o fluxo arterial, é inversamente correlacionado ao fluxo portal, proporcionando um fluxo sanguíneo hepático total constante (LAUTT, 1996).

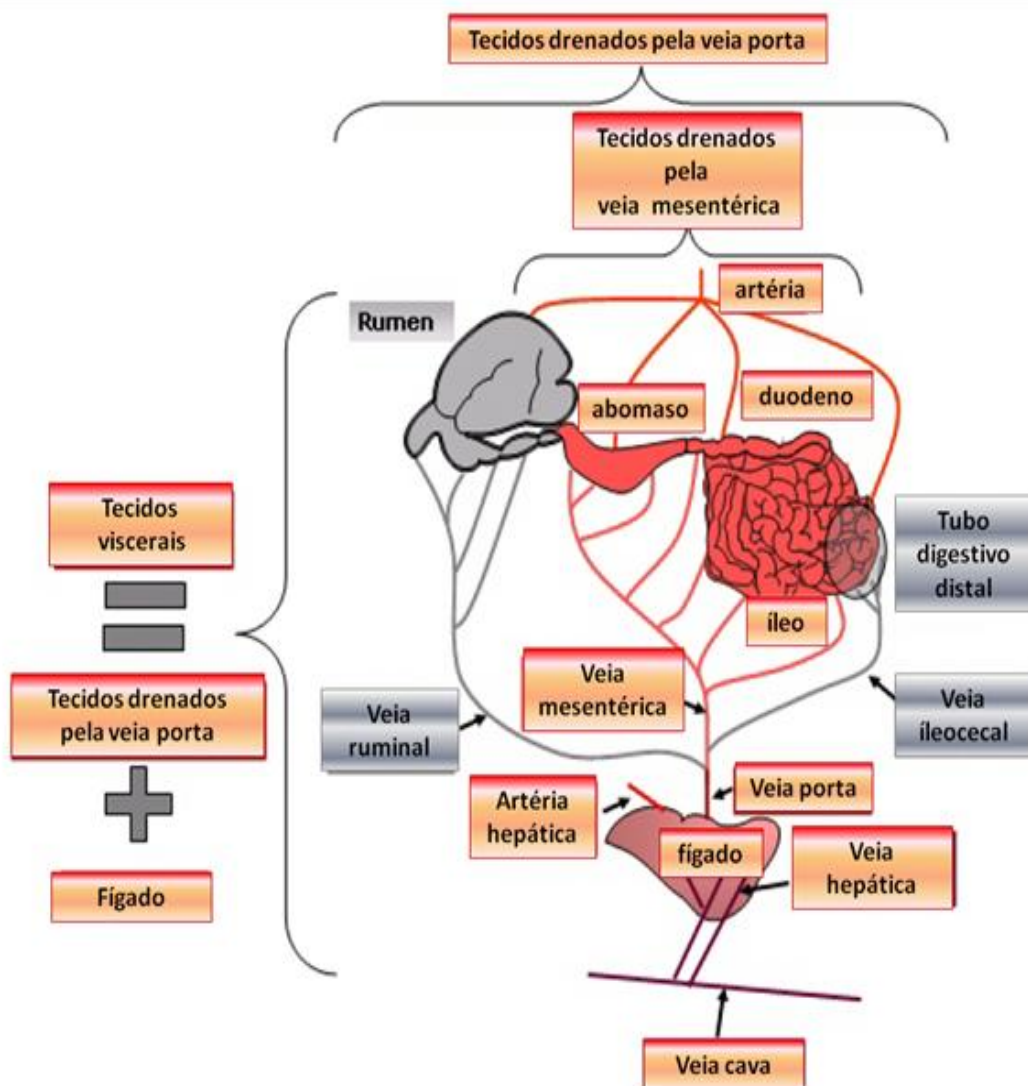


Figura 1 – Representação esquemática da anatomia vascular do sistema visceral nos ruminantes (adaptado de Kraft, 2009).

O fígado é responsável por inúmeros processos metabólicos e fisiológicos indispensáveis ao organismo (Quadro 1).

**Metabolismo de açúcares:**

Gliconeogênese

Glicogênese

Glicogenólise

**Metabolismo de compostos nitrogenados:**

Ureagênese (detoxificação de amônia)

Síntese dos aminoácidos não-essenciais e glutatona

Síntese de proteínas hepáticas constitutivas e de exportação: albumina, fibrinogênio, transportadores de hormônios, fatores de coagulação sanguínea, proteínas da reação inflamatória, fatores de crescimento, etc.

**Metabolismo de lipídios:**

Síntese do colesterol

Degradação de colesterol em ácidos biliares

Produção de triglicerídios

Síntese de lipoproteínas

**Metabolismo de outras moléculas:**

Degradação da insulina e outros hormônios

Degradação da hemoglobina e eliminação da bilirrubina na bile

Degradação de substâncias tóxicas (outras além de amônia)

**Síntese da bile**

**Função imunológica:** as células de Kupfer correspondem a 80-90% da população de macrófagos do sistema reticuloendotelial.

**Armazenagem:** glicogênio, vitamina B12 e lipossolúveis, ferro, cobre, ácido fólico.

Quadro 1 – Funções do fígado (adaptado de Nelson e Cox, 2004)

O fígado é constituído por quatro tipos de células: hepatócitos (maior grupo), macrófagos (células de Kupffer), células endoteliais delineando o Espaço de Disse, e adipócitos (JUNGERMANN e KIETZMANN, 1996). Os hepatócitos se organizam ácidos com forma hexagonal. Os hepatócitos apresentam heterogeneidade nas características espaciais e metabólicas, e podem ser divididos, de modo simples, em duas populações; perivenoso (90% do hepatócitos totais) e periportal, de acordo com sua capacidade em produzir uréia ou glutamina, respectivamente (LOBLEY et al., 2000).

Os hepatócitos periportais são os primeiros a receber o sangue aferente portal e possuem todas as cinco enzimas envolvidas no Ciclo da Uréia, mais glutaminase mitocondrial e RNA mensageiro para uma variedade de proteínas de exportação (com exceção de albumina), bem como transportadores para a maioria dos AA, com exceção de aspartato e glutamato (GEBHARDT, 1992). As células perivenosas estão ao redor dos ramos da veia hepática e não possuem as enzimas do Ciclo da Uréia, sugerindo que a produção de uréia ocorrerá especificamente nas células periportais. As células perivenosas possuem glutamina sintetase citosólica, transportadores para entrada de glutamato e aspartato, e ornitina aminotransferase; necessária para o catabolismo da arginina (KUO et al., 1991).

## **2.2 Balanço de nutrientes em um tecido ou grupo de tecidos: aspectos metodológicos**

O balanço de nutrientes e  $O_2$  de um tecido ou de grupos de tecido pode ser estimada pela diferença entre a quantidade de nutrientes presentes na saída e entrada desse tecido. Essas medidas podem ser realizadas *in vivo* graças à implantação cirúrgica de catéteres em ponto anterior e ao(s) tecido(s) de interesse. Nesses pontos se obtém amostras do sangue aferente e eferente, nas quais pode se proceder a medidas de concentração de substâncias e, por fim, medir ou estimar o fluxo sanguíneo aferente e eferente no tecido de interesse.

### 2.2.1 Preparação cirúrgica

A colocação de catéteres vasculares anterior e posterior a um tecido é dependente da anatomia vascular (Figura 2), e é específica a cada espécie. Com exceção das artérias pulmonares, a concentração de um nutriente é igual em todas as artérias, e a escolha do sítio arterial a ser cateterizado é independente do tecido de interesse. Em geral, a artéria aorta, carótida, ou um dos ramos da artéria mesentérica é cateterizada (ORTIGUES et al., 1994).

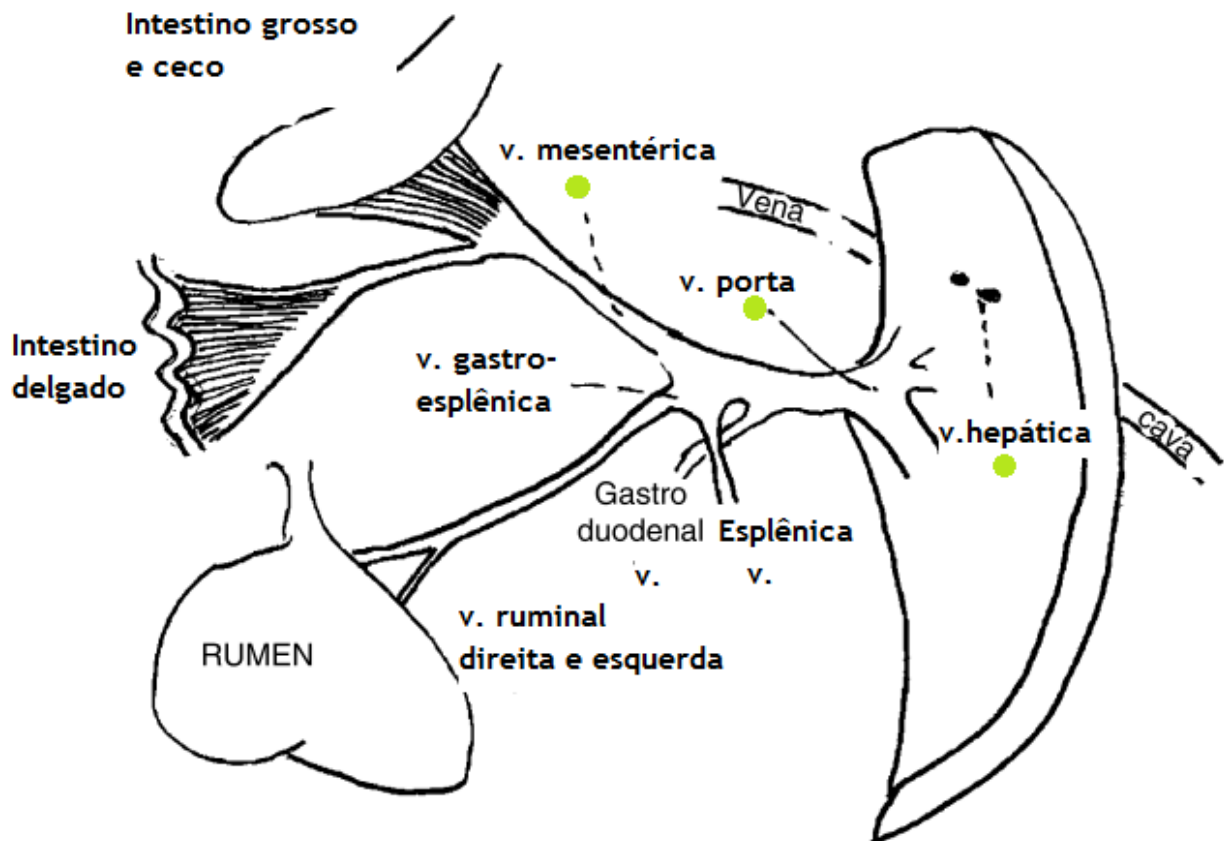


Figura 2 – Representação dos sítios de implantação de catéteres (●) no sistema visceral em ruminantes. (adaptado de Lindsay e Reynolds, 2005).

No trato digestivo se podem classificar os tecidos em pelo menos dois tipos, segundo a anatomia vascular; os tecidos drenados pela veia mesentérica e os TDVP. Os tecidos drenados pela veia mesentérica são o abomaso e intestino

delgado. Os TDVP compreendem os tecidos drenados pela veia mesentérica mais o rúmen, pâncreas, baço, gordura mesentérica e omental e intestino grosso (SEAL e REYNOLDS, 1993).

O fígado tem a particularidade de ser irrigado por sangue proveniente da veia porta e da artéria hepática e ser drenado por ramos da veia hepática (SEAL e REYNOLDS, 1993). A compartimentalização do metabolismo hepático entre os diferentes lobos, não influencia a composição do sangue drenado pelos ramos da veia hepática, e desse modo, a implantação de três cateteres é suficiente para mensurar o balanço líquido de nutrientes ao nível hepático. O fígado tem a particularidade de receber dois tipos de sangues aferentes: a veia porta e a artéria hepática, enquanto que os ramos da veia hepática são as únicas vias eferentes do fígado (SEAL e REYNOLDS, 1993). A compartimentalização do metabolismo hepático entre os diferentes lobos, não influencia a composição do sangue drenado pelos ramos da veia hepática, e desse modo, a implantação de três cateteres é suficiente para mensurar o balanço líquido de nutrientes ao nível hepático.

### 2.2.2 Medida do fluxo sanguíneo e de nutrientes

Para medir o fluxo de sangue através de um vaso, duas técnicas são geralmente utilizadas. A primeira é um método de diluição que consiste em infundir um marcador, não metabolizável pelos tecidos, e medir a concentração deste marcador em nível sanguíneo aferente e eferente. Substancial extração do marcador pelos rins ou fígado é requerida em cada ciclo de circulação para manter a concentração arterial do marcador constante. Os marcadores geralmente utilizados são o ácido paraminohipúrico (PAH) (Katz e Bergmann, 1969; Ortigues-Marty et al., 1994) ou verde de indocianina (Cherrik et al., 1960; Wester et al., 2000). Para medir o fluxo sanguíneo a nível visceral, o marcador é infundido em um ramo da veia mesentérica e as coletas de sangue são realizadas em um ponto antes (catéter da artéria) e depois (catéter das veias porta e hepática) do sítio de infusão (Huntington, 1984).

O segundo método é baseado na implantação cirúrgica de uma sonda ultrasônica ao redor do vaso no qual se deseja medir o fluxo sanguíneo (Huntington et al., 1990). Este método provou sua acurácia em mensurar o fluxo de sangue portal em ovinos (REMOND et al., 1998). Contudo, em bovinos devido ao tamanho do animal, e por não apresentarem uma artéria hepática bem individualizada, a colocação de uma sonda debimétrica na artéria hepática não é possível e, por isto, o fluxo de sangue arterial para o fígado necessita ser estimado (REMOND et al., 1998).

O fluxo de sangue na veia porta ou hepática pelo método dos marcadores é calculado pela diferença de concentração portal ou hepática, menos a concentração arterial, em relação a taxa de infusão do marcador. O fluxo de sangue arterial no fígado é calculado como a diferença entre o fluxo de sangue visceral menos o fluxo de sangue portal.

O fluxo líquido de qualquer nutriente pelo sistema portal ou visceral total é calculado como a diferença entre a concentração portal ou hepática menos a concentração arterial do nutriente, multiplicado pelo fluxo de sangue da veia em questão (método de diferença de concentração artério-venosa (A-V)). Se a concentração venosa for mais alta que a arterial, o fluxo será positivo e indicará produção do nutriente, enquanto que, em situação inversa, indicará utilização do nutriente pelo órgão ou sistema (KOZLOSKI, 2009). Exigências fundamentais do método de diferença A-V são a habilidade em medir acuradamente o fluxo de sangue e pequenas diferenças de concentração A-V.

As limitações do método de diferença A-V incluem:

a) A perda da patência de um catéter pode “inutilizar” um animal para as coletas de sangue em um experimento. A amostra de sangue arterial é essencial, e por isso, na maioria das vezes a artéria carótida é elevada a uma posição subcutânea para facilitar a inserção e manutenção de um catéter temporário (HUNTINGTON et al., 1989). Além disso, quando são usados marcadores para medir o fluxo de sangue, se faz necessário um catéter patente e corretamente posicionado na veia mesentérica, para a infusão do marcador.

b) A mistura incompleta do marcador nos vasos sanguíneos pode resultar em sub ou superestimação de uma diferença A-V e um erro na estimativa do fluxo de sangue, quando o método de diluição é utilizado. Por isso, o catéter de infusão da veia mesentérica deve ser implantado com sua ponta o mais longe possível do sítio

de coleta da veia porta, e o catéter de coleta da veia porta deve ser inserido a favor da corrente sanguínea do porta-hepatis, visto que a turbulência ajuda a misturar o sangue portal antes de atingir o fígado (LINDSAY e REYNOLDS, 2005).

c) O ideal seria medir o fluxo e a concentração durante todo o período de 24 h para poder se considerar todas as variações. Alternativamente se pode lançar mão de manejos que reduzam as variações diárias, como o fornecimento de alimento a cada hora. Contudo, isso não elimina a variação e pode “mascarar” o metabolismo normal (LINDSAY e REYNOLDS, 2005).

O metabolismo visceral pode ser avaliado *in vitro* através de técnicas que utilizam células isoladas de membranas ou segmentos intestinais (MCBRIDE e MILLIGAN, 1985a; KELLY et al., 1993b) ou de fígado (MCBRIDE e MILLIGAN, 1985b; KAMALZADEH et al., 2009), culturas de tecidos em monocamadas (KELLEY et al., 1986), incubação de fragmentos de tecidos ou órgãos (BURRIN et al., 1990). Essas metodologias permitem identificar e quantificar processos bioquímicos específicos, como a atividade de enzimas, taxas e mecanismo de transporte de nutrientes através de membranas, taxa do metabolismo de nutrientes pelos tecidos, entre outros. Contudo, os tecidos que compõe os órgãos dos animais possuem uma heterogeneidade maior que o conjunto de células isoladas para os experimentos *in vitro*. Além disso, nessas técnicas há uma troca limitada entre as células e o meio de cultura, as concentrações de substrato são geralmente suprafisiológicas, e especialmente, não há presença de fluxo sanguíneo, que constantemente fornece substratos e retira resíduos metabólicos, fazendo com que as respostas metabólicas observadas *in vitro* possam diferir substancialmente daquelas que ocorrem *in vivo* (KOZLOSKI, 2009).

## **2.3 Metabolismo do sistema visceral**

### **2.3.1 Oxigênio**

A determinação da eficiência energética dos animais domésticos produtivos iniciou traçando-se a relação entre entrada (nutrientes) e saída (crescimento e

ganho) de energia. O conhecimento sobre as fontes de perda de energia durante os processos de digestão e metabolismo deu origem à descrição dos alimentos e exigências dos animais em termos de energia digestível e metabolizável (McBRIDE e KELLY, 1990). Esse processo avançou mais com a quantificação do calor acumulado como consequência do trabalho metabólico, para manutenção da homeostase e processos produtivos. A relação entrada/saída foi então aplicada aos eventos biológicos de produção de calor, e originou o termo energia líquida ou retida, que foi definida como a diferença entre EM consumida e a perda como calor (JOHNSON et al., 2003).

Os tecidos do TGI juntamente com o fígado utilizam entre 35-60% do total de  $O_2$  consumido pelo animal, enquanto representam 10-13% da massa corporal total (SEAL e REYNOLDS, 1993), e desse modo, a atividade metabólica por unidade de massa desses tecidos é substancialmente alta. Quantitativamente, os maiores componentes desse gasto são os sistemas de transporte de íons dependentes de  $Na^+K^+ATPase$  e o turnover de proteínas (MCBRIDE e KELLY, 1990). Fatores que influenciam o gasto de energia pelo sistema visceral incluem o consumo de uma 'refeição', o consumo de energia, tanto metabolizável (SEAL e REYNOLDS, 1993), quanto digestível (GOETSCH, 1998), e o estado fisiológico do animal (gestação, lactação) (LOMAX e BAIRD, 1983).

Os animais mantêm uma hierarquia na distribuição dos nutrientes e da energia disponíveis, prioritariamente empregam os nutrientes e a energia disponível para as atividades de manutenção das atividades básicas do organismo e na medida em que essas são supridas passam cada vez mais a destinar para funções que reconhecemos como "produtivas". Quando em jejum, descansados e em zona de termoneutralidade, os animais apresentam um gasto basal de energia, que é sustentado pela oxidação de substratos, principalmente lipídios e AA mobilizados dos tecidos (MILLIGAN e SUMMERS, 1986). A exigência de manutenção é a EM da dieta necessária para manter essa taxa metabólica basal, mais a energia necessária para sustentar atividades mínimas de locomoção e a excreção urinária de energia (MILLIGAN e SUMMERS, 1986). Isto é, a EM que irá exatamente balancear a produção de calor, sem perdas ou ganhos nas reservas corporais de energia (WEBSTER et al., 1974).

A EM consumida (CEM) pelo animal se divide em duas:

$$CEM = EC + ER$$



A primeira é a energia perdida como calor (EC), e a EM consumida em excesso à EC, é retida como parte dos tecidos corporais, ou liberada em um produto (por ex. leite). Essa energia é denominada energia retida (ER), comumente referida como balanço de energia (WILLIAMS e JENKINS, 2003).

Os componentes da EC são: produção de calor basal ou de jejum (ECb), calor de atividade voluntária (ECat), calor de regulação térmica (ECrt), calor de digestão, absorção e assimilação (ECd), calor de fermentação (ECf) calor de formação de produtos de excreção e excreção (ECex), e calor de formação de produtos (ECp) (NRC, 1981). Desse modo:

$$EC = ECb + ECat + ECrt + ECd + ECf + ECex + ECp$$

Os componentes ECd, ECf, ECex e ECp combinados, são considerados o incremento calórico (ECic). Williams e Jenkins, 2003, propõe a divisão da ECic em incremento calórico de manutenção (ECic<sub>m</sub>) e incremento calórico de produção (ECic<sub>p</sub>). Quando a produção é zero, a ER será zero, e o ECic<sub>p</sub>, que é resultado do ganho, também será zero. Nesse caso, se o animal está em equilíbrio de peso corporal, esse nível de consumo de EM é referida como EM de manutenção (EMm). Quando o consumo de EM < EMm, tecidos corporais serão mobilizados para atender essa deficiência e o animal irá perder peso. Em animais produtivos, o consumo de EM > EMm, e após atender a manutenção, uma parte da EM remanescente será retida e o restante, perdida como incremento calórico de produção (WILLIAMS e JENKINS, 2003). Alguns autores propõem que os processos energéticos que ocorrem na manutenção (digestão, circulação, secreção, manutenção de concentração de gradientes, turnover de tecidos, e atividade para busca de alimento), são incrementados no animal produtivo em relação direta com seu nível de consumo (TURNER e TAYLOR, 1983; MILLIGAN e SUMMERS, 1986).

#### 2.3.1.1 Processos bioquímicos integrantes do gasto de O<sub>2</sub> basal

O gasto de energia basal foi categorizado em custos relativos a funções de 'serviço' que alguns órgãos prestam a todo o organismo, e custos necessários à existência individual de células e tecidos (BALDWIN et al., 1980) (Tabela 1).

As funções de serviço podem representar 36 –50% do gasto de energia basal, e é pouco provável que este custo possa ser diminuído por influencia externa. Já os custos envolvidos na manutenção de células e tecidos podem somar 40 – 56% do gasto basal de energia e o custo da atividade dos componentes metabólicos específicos deste gasto podem variar com o estado fisiológico do animal, idade, temperatura, nível de consumo, hormônios, entre outros (BALDWIN et al., 1980).

Tabela 1 – Gasto de energia em funções envolvidas na manutenção.

<b>Função</b>	<b>Gasto de energia basal (%)</b>
<i>Serviço</i>	
Função renal	6 - 7
Atividade do coração	9 - 11
Respiração	6 - 7
Função nervosa	10 - 15
Função hepática	5 – 10
<i>Manutenção celular</i>	
Síntese de proteína	9 - 12
Transporte de íons	30 - 40
Síntese de lipídios	2 – 4

Fonte: (BALDWIN et al., 1980).

#### 2.3.1.1.1 Atividade de Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPase

A Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPase é uma proteína presente na membrana do epitélio intestinal, rins, fígado, coração, entre outras. As Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPases bombeiam o Na<sup>+</sup> intracelular de volta para o sangue, com concomitante entrada de íons K<sup>+</sup> na célula, e desse modo, um gradiente de Na<sup>+</sup> e K<sup>+</sup> é estabelecido entre o lúmen e o epitélio das células intestinais (CANT et al., 1996). Estudos utilizando tecidos isolados do TGI e fígado de ovinos e bovinos demonstram que a respiração dependente de Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>ATPase representa 14 – 61% da respiração total na mucosa intestinal, 21 – 28% nas papilas ruminais e 18 – 41% nos hepatócitos (Tabela 2).

Tabela 2 – Valores médios publicados de consumo de oxigênio *in vitro* relacionado à atividade de  $\text{Na}^+.\text{K}^+\text{ATP}^{\text{ase}}$  em tecidos do sistema visceral.

Referência	Tecido	n <sup>1</sup>	Gasto de O <sub>2</sub> (nmol/min/mg tecido seco)		
			Total	Associado a $\text{Na}^+.\text{K}^+\text{ATPase}$	% do total
<i>Ovinos</i>					
(MCBRIDE e MILLIGAN, 1985a)	Duodeno	10	5,21 - 6,7	1,48 – 3,69	28,6 – 61,3
(MCBRIDE e MILLIGAN, 1985b)	Fígado	4	2,13 – 3,02	0,48 – 1,27	17,8 – 41,1
(KELLY et al., 1993b)	Duodeno	4	4,39 – 6,03	1,11 – 1,89	20,2 – 40,6
(DI MARCO et al., 2001)*	Fígado		0,97 – 1,10	0,27 – 0,34	27,8 – 30,9
	Rúmen		0,13 – 0,17	0,040 – 0,045	26,4 - 30,7
<i>Bovinos</i>					
(MCBRIDE e MILLIGAN, 1984)	Duodeno	2	4,83 – 6,1	1,82 – 2,97	33,7 – 55
(EARLY et al., 1990)	Jejuno	10	7,05 – 8,11	1,85 – 2,11	26,1 – 26,2
	Jejuno	16	6,70 – 8,41	0,97 – 1,41	14,4 – 19,8
(KELLY et al., 1993a)	Rúmen	7	4,17 – 5,65	0,93 – 1,34	23 – 28,5

<sup>1</sup>Número de animais. \* Unidade de gasto de O<sub>2</sub>= nmol/min/mg tecido fresco.

Em contraste ao consumo total de O<sub>2</sub>, tem sido demonstrado que a respiração associada ao transporte de  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$  nos tecidos intestinais é influenciada pelo nível de consumo (Tabela 3). McBride e Milligan, (1985a) não encontraram diferenças em gasto *in vitro* total de O<sub>2</sub> pela mucosa duodenal, em animais mantidos em jejum por 48 h ou alimentados ao nível de 1x e 2x a exigência de EM de manutenção. Entretanto, relataram que uma provável modificação na atividade metabólica dos componentes do gasto de O<sub>2</sub> pelas células da mucosa tenha ocorrido, evidenciado pelo aumento de 37% na respiração dependente de  $\text{Na}^+.\text{K}^+\text{ATP}^{\text{ase}}$ /g tecido da mucosa duodenal, com o aumento no nível de consumo. Contrabalaneando isto, a respiração

independente de  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{ATP}^{\text{ase}}$  diminuiu nos animais alimentados, comparado com os mantidos em jejum.

Tabela 3 – Efeito do nível de consumo sobre o uso *in vitro* de oxigênio relacionado à atividade de  $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ , em tecidos do sistema visceral.

Referência	Tecido	Nível consumo	Consumo de $\text{O}_2$ (nmol/min/mg tecido seco)		
			$\text{O}_2$ total	$\text{Na}^+\text{K}^+$ $\text{ATP}^{\text{ase}}$	% do total
(MCBRIDE e MILLIGAN, 1985a)	Duodeno	Jejum	5,21	1,48	28,6
		1X manutenção	6,65	2,69	48,1
		Acima manutenção	6,07	3,69	61,3
(MCBRIDE e MILLIGAN, 1985b)	Hepatócitos	Jejum	2,13	0,48	41,1
		Alimentado	3,02	1,27	17,8
<b>(nmol/min/mg proteína)</b>					
(MCLEOD e BALDWIN, 2000)	Rúmen	1X manutenção	16,9	3,7	21,8
		2X manutenção	14,2	3,3	23,3
	Duodeno	1X manutenção	51,2	9,8	19,3
		2X manutenção	59,6	13,4	24,1
	Jejuno	1X manutenção	40,1	12,6	30,5
		2X manutenção	51,9	16,5	32,1
	Íleo	1X manutenção	25,4	5,5	20,1
		2X manutenção	27,1	7,9	28,9

A respiração independente de  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{ATP}^{\text{ase}}$  inclui o gasto total de  $\text{O}_2$  na fosforilação oxidativa requerida para sustentar atividades bioquímicas como a síntese de proteína, síntese de ácidos nucleicos, transporte de  $\text{Ca}^+$  e outras, que não o transporte de  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$  (McBride e Milligan, 1985a). De maneira similar, a atividade de  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{ATPase}$  na mucosa jejunal de cordeiros alimentados *ad libitum* foi maior, comparado aos com alimentação restrita (ROMPALA e HOAGLAND,

1987). Contrário a isto, a respiração dependente de  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{ATP}^{\text{ase}}$  não foi afetada na mucosa jejunal de cordeiros alimentados *ad libitum* vs. 40% *ad libitum* (ROMPALA et al., 1987). Kelly et al. (1993) não observaram diferenças nem no gasto *in vitro* total de  $\text{O}_2$ , nem no uso de  $\text{O}_2$  relativo a atividade de  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{ATP}^{\text{ase}}$  na mucosa duodenal em animais mantidos em jejum por 48 h ou alimentados ao nível de 1X e 2X a manutenção. Outros autores observaram que o nível de consumo (1X e 2X a manutenção) influenciou a respiração dependente de  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{ATP}^{\text{ase}}$  na mucosa do duodeno e jejuno, enquanto que no íleo aumentou moderadamente (MCLEOD e BALDWIN, 2000).

#### 2.3.1.1.2 Síntese protéica

No total dos TDVP, o tubo digestivo é o que contribui com a maior atividade de síntese protéica. Sua massa representa em média, 6-8% da massa protéica corporal, mas devido à elevada taxa fracional de síntese protéica (TFSP), contribui com 25-35% da síntese total de proteína corporal (LOBLEY et al., 1980; DAVIS et al., 1981; ATTAIX et al., 1988). A TFSP entre os segmentos do TGI é bastante variável: Pré- estômagos:

O desenvolvimento do rúmen é rápido e estimulado pelo início da ingestão de alimento sólido e o estabelecimento da fermentação microbiana. Desse modo, o retículo-rúmen representa cerca de 7 e 30% da massa do TGI em cordeiros de 1 e 8 semanas de idade, respectivamente. Após o desmame, o desenvolvimento do rúmen reflete um aumento na eficiência de síntese protéica (quantidade de proteína/unidade de RNA) (ATTAIX et al., 1988). Em ruminantes adultos, a massa da mucosa ruminal aumenta com o aumento no nível de consumo, e é associada com uma maior TFSP (LOBLEY et al., 1994; NOZIERE et al., 1999).

No abomaso o metabolismo protéico consiste basicamente da secreção de enzimas digestivas (pepsina, lisozima) e mucinas. Tanto a massa protéica do abomaso, como a TFSP não são influenciadas pelo aumento do nível de consumo nos animais (LOBLEY et al., 1994; NOZIERE et al., 1999).

No intestino delgado (ID) a TFSP é a maior entre todos os compartimentos do TGI, e reflete o turnover das células epiteliais, síntese das enzimas da borda em

escova e mucinas, e a presença de células do sistema imune. A atividade de síntese de proteína aumentou discretamente em cordeiros alimentados acima da manutenção (LOBLEY et al., 1994; NOZIERE et al., 1999), e apenas tendeu a aumentar em ovinos recebendo 400 ou 1200 g/dia de alfafa (Neutze et al., 1997), sugerindo que a quantidade de nutrientes que chega ao ID não tem influencia substancial sobre a síntese protéica intestinal. Entretanto, a massa protéica intestinal é altamente sensível ao nível de consumo, e reduziu drasticamente com o jejum, sugerindo que a proteólise tem um efeito determinante sobre a massa do ID (NEUTZE et al., 1997).

A velocidade de síntese fracional de proteínas hepáticas é aproximadamente cinco vezes mais rápida do que nos tecidos musculares. Em ovinos adultos, oscila entre 20 e 30%/dia, (Attaix et al., 2005) e corresponde a 35-40% da síntese de proteína dos TDVP. Esses valores envolvem a produção de proteínas constitutivas e de exportação, com as últimas representando 38-51% da síntese protéica total neste órgão (ATTAIX et al., 2005). A síntese de proteínas constitutivas hepáticas não é influenciada pelo nível de consumo de alimento (ATTAIX et al., 1988; LOBLEY et al., 1994). Entretanto, a produção das proteínas de exportação (albumina, fibrinogênio, etc.) é particularmente sensível a mudanças agudas no plano nutricional, como jejum (CONNELL et al., 1997).

O gasto de energia na síntese de proteínas está relacionado diretamente ao uso de ATP para a incorporação dos AA na cadeia polipeptídica (MILLIGAN e SUMMERS, 1986). A síntese da ligação peptídica determina um custo direto de 4 mol ATP/mol de AA incorporados em proteína (GREGG e MILLIGAN, 1982). Além disso, o custo de transporte dos AA para dentro da célula soma 0,33 a 1 mol de ATP/mol AA transportados (GILL et al., 1989). Utilizando-se a relação de 130 mg de proteína/g de tecido intestinal, e turnover de 80%/dia, 0,66 – 1,23 mol O<sub>2</sub>/mol AA incorporados na cadeia polipeptídica, serão perdidos como calor (AOYAGI et al., 1988).

O custo energético para síntese de proteínas pode representar 20 – 23% do gasto total de O<sub>2</sub> no TGI e 15 - 23% no fígado (MCBRIDE e KELLY, 1990) (Tabela 5), e a proporção desse gasto parece permanecer relativamente constante, comparado aos custos associados ao transporte dependente de Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>ATPase. McBride e Kelly (1990) sugerem que isso reflete a minuciosa regulação das entradas de ATP para a síntese protéica, e que a eficiência energética da deposição de proteína é ditada por outras variáveis, como o grau e método de degradação

protéica ou processos complementares envolvidos, como homeostase iônica e transporte de AA (MCBRIDE e KELLY, 1990). Por exemplo, no tecido muscular mais de 25% dos custos atribuídos a síntese de proteína foram relacionados à atividade de  $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$  (ADEOLA et al., 1989).

A síntese protéica nos TDVP e fígado é influenciada pelo nível de consumo em ruminantes (BURRIN et al., 1990; LOBLEY et al., 1994; CONNELL et al., 1997; NEUTZE et al., 1997; NOZIERE et al., 1999). Contudo, dados concernentes à utilização de  $\text{O}_2$  para a síntese de proteína, e sua variação com o nível de consumo nos tecidos do sistema visceral em ruminantes são escassos na literatura. Kelly et al. (1993) não observaram diferenças em gasto *in vitro* de  $\text{O}_2$  na respiração sensível a cicloheximida (uso de  $\text{O}_2$  associado a síntese protéica) na mucosa duodenal, em ovinos mantidos em jejum por 48 h ou alimentados ao nível de 1x e 2x a manutenção. Gill et al. (1989) estimaram um aumento de 40% e 42% no gasto de  $\text{O}_2$  relativo ao turnover de proteína no TGI e fígado, no nível de consumo baixo (10,4 g/h de matéria orgânica digestível - MOD) para o alto (25,6 g/h de MOD), respectivamente. Lobley et al., (1987) observaram que a síntese de proteína corporal diminuiu com o decréscimo no nível de consumo (1.6X M, 1X M e jejum), contudo a produção de calor atribuída a síntese protéica em relação a produção de calor total não foi diferente entre os níveis de consumo.

#### 2.3.1.1.3 Degradação protéica

A degradação de proteínas é essencial no processo de controle intracelular e responsável por funções primordiais como o turnover de proteínas anormais e a manutenção de enzimas e componentes estruturais no interior da célula. Além disso, outra importante função é prover AA em casos de necessidade, como consumo abaixo da manutenção ou no jejum (HERSHKO e CIECHANOVER, 1982).

Dois processos dependentes de ATP estão envolvidos na degradação intracelular de proteína: degradação não lisossomal e degradação lisossomal (HERSHKO e CIECHANOVER, 1982). O grau de atividade de um ou outro processo é dependente do tipo de célula e de mudanças fisiológicas (HERSHKO, 1988). A degradação lisossomal é altamente não seletiva, é o sistema dominante em

condições normais (basal) ou de aumento na degradação protéica intracelular (estados patológicos ou de privação nutricional) e degrada tanto proteínas de meia-vida curta como longa (MAYER e DOHERTY, 1986). Esse sistema envolve o isolamento da proteína e formação de um autofagossomo, fusão desse com um lisossomo e catabolismo da proteína em um ambiente ácido por ação de proteases (MAYER e DOHERTY, 1986). O gasto de ATP nesse processo é indireto e engloba a formação do autofagossomo e lisossomo e a manutenção da alta concentração de  $H^+$  no interior do lisossomo (MCBRIDE e KELLY, 1990).

Já na via citosólica (não lisossomal), a degradação protéica ocorre em uma série de passos sequenciais, resultando na marcação das proteínas a serem destruídas com um 'rótulo', que consiste do polipeptídeo ubiquitina (HERSHKO, 1988). Desse modo, esse processo habilita a célula a degradar as proteínas indesejadas com alta especificidade, e essa regulação é quem imputa gasto de energia. ATP é requerido na atividade das enzimas para a formação dos conjugados ubiquitina-substrato, e sua degradação intracelular (CIECHANOVER, 1987).

Embora a degradação protéica seja um processo ativo e contínuo no interior das células, contribui com uma proporção menor do gasto de energia total no TGI (MCBRIDE e KELLY, 1990) (Tabela 5).

#### 2.3.1.1.4 Ciclagem de substratos

A ciclagem de substratos confere flexibilidade e sensibilidade aos fluxos metabólicos, o que aumenta o controle na regulação alostérica pelos produtos finais ou precursores no ciclo (MCBRIDE e KELLY, 1990). Nos hepatócitos, inúmeros ciclos de substrato são operantes, como glicose/glicose 6-fosfato, frutose/frutose 1,6 difosfato, glicogênio/glicose 1-fosfato, triglicerídeos/ácidos graxos, colesterol/ésteres de colesterol, acetil-CoA/acetato, glutamina/glutamato, AMP/adenosina, Ciclo de Cori (NEWSHOLME e STANLEY, 1987).

Para cada par de substrato, ATP ou equivalentes de ATP (NADH, FADH) são utilizados em uma direção, e na direção reversa não há fosforilação ao nível de substrato para repor o ATP, resultando na utilização líquida de ATP a cada ciclo. Em



alguns tecidos, particularmente aqueles que sustentam rotas metabólicas de alta capacidade, em ambas as direções (direta e reversa), os ciclos de substrato podem representar um custo energético substancial (Tabela 4). Rabkin e Blum (1985) reportam que os ciclos de substrato envolvidos na glicólise, mais o par acetil-CoA/acetato contribuem com mais de 26% do gasto total de energia nos hepatócitos.

Tabela 4 – Utilização de O<sub>2</sub> na ciclagem de substratos nos hepatócitos.

Ciclo	% do consumo de O <sub>2</sub> pelos hepatócitos
Glicose/ glicose 6-fosfato	3,0 – 4,6
frutose/frutose 1,6 difosfato	8,8 – 14,2
acetil-CoA/acetato	2,8 – 3,1
Fosfoenolpiruvato/piruvato/oxaloacetato	3,3 – 6,6

Fonte: (RABKIN e BLUM, 1985).

#### 2.3.1.1.5 Síntese de uréia

A síntese de uréia representa um custo energético ao animal, pois são gastos 3 ATP e formados 2 ADP e 1 AMP. Na conversão de AMP para ADP há o gasto de mais um ATP, totalizando quatro moléculas de ATP negativos por ciclo (ANAND e ANAND, 1993; KOZLOSKI, 2011). Contudo, o Ciclo da Uréia também resulta na formação de uma molécula de fumarato, que ao ingressar o Ciclo de Krebs gera um NADH (NELSON e COX, 2004). O NADH ao ser oxidado na cadeia respiratória mitocondrial produz 3 ATP, o que pode reduzir gasto líquido de energia do ciclo da uréia para 1 ATP (KOZLOSKI, 2009).

Utilizando a relação de 4 ATP/mol de uréia, Eisemann e Niebaber (1990) estimaram que a atividade do Ciclo da Uréia pode representar 7% do gasto de O<sub>2</sub> pelo fígado. Entretanto, Huntington e Reynolds, (1987) utilizando essa mesma relação estimaram um valor substancialmente maior (25%). Essas variações podem estar relacionadas a fatores alterando a disponibilização de amônia ao fígado.

Condições em que a concentração de N na dieta é elevada, de alta degradabilidade ruminal, ou quando a disponibilidade de carboidratos rapidamente fermentáveis não está em quantidade, ou velocidade de degradação compatível à taxa de produção de amônia no rúmen, aumentam a liberação de N-NH<sub>3</sub> para o sangue portal. Configurações produtivas ou experimentais que promovam alta remoção de AA pelo fígado também pode implicar em aumento no gasto de energia na ureagênese. Alta captação de AA pelo fígado ocorre com excessiva liberação pelos TDVP em relação às exigências para síntese de proteína nos tecidos periféricos, baixa disponibilidade de propionato ou lactato relativo à necessidade para a gliconeogênese e/ou alta captação de amônia pelo fígado (REYNOLDS, 1992).

Tabela 5 – Gasto de energia em atividades metabólicas no trato gastrointestinal e fígado. Modificado de McBride e Kelly, (1990).

Item	% do gasto de energia pelo tecido	% do gasto total de energia pelo animal
<i>Trato gastrointestinal</i>		
Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> ATPase	28,5 – 62 <sup>a</sup>	5,7 – 12,4
Síntese protéica	20,2 – 23 <sup>c</sup>	4,0 – 4,6
Degradação protéica <sup>1</sup>	4,3 <sup>c</sup>	0,9
Total	53 – 90,4	10,6 – 17,9
<i>Fígado</i>		
Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> ATPase	16,2 – 55,3 <sup>b</sup>	3,2 – 11,1
Síntese protéica	15,5 – 24,4 <sup>c</sup>	3,1 – 4,9
Degradação protéica <sup>1</sup>	4,0 <sup>c</sup>	0,8
Ciclagem de substratos	18 – 30,3 <sup>d</sup>	3,6 – 6,1
Síntese de uréia	7,1 <sup>f</sup> – 25 <sup>g</sup>	1,4 – 5,0
Total	60,8 - 121	12,1 – 24,3

<sup>1</sup>Calculado assumindo que a degradação protéica equivale a 0.20 do gasto de energia para a síntese protéica de acordo com McBride e Kelly (1990), <sup>a</sup>(MCBRIDE e MILLIGAN, 1985a,b), <sup>b</sup>(MCBRIDE e MILLIGAN, 1985b), <sup>c</sup>(MCBRIDE e KELLY, 1990), <sup>d</sup>(RABKIN e BLUM, 1985), <sup>f</sup>(EISEMANN e NIENABER, 1990), <sup>g</sup>(HUNTINGTON e REYNOLDS, 1987).

#### 2.3.1.1.6 Síntese de glicose

A gliconeogênese tem um custo energético significativo e variável dependendo do substrato disponível. Quando o propionato é utilizado há um balanço

negativo de 4 moles de ATP/mol de glicose sintetizada. Quando os AA são precursores, o custo energético na rota gliconeogênica irá variar de acordo com os intermediários do Ciclo de Krebs que estes AA irão produzir (i.e -12 moles de ATP para alanina e glicina, 9 moles de ATP/mol para arginina) (KOZLOSKI, 2009). McBride e Kelly (1990) reportam que a síntese hepática de glicose, juntamente com outros processos metabólicos como síntese de ácidos graxos, turnover de lipídios e transporte de  $\text{Ca}^{2+}$ , representam aproximadamente 17% do gasto total de  $\text{O}_2$  pelo animal.

### 2.3.2 Glicose

O metabolismo de glicose nos ruminantes é dominado pela exigência de precursores adequados para a gliconeogênese, refletindo a deficiência de absorção de glicose do trato digestivo, especialmente em animais alimentados à base de forragens (SEAL e PARKER, 2000). Experimentos que mensuram a utilização geral de glicose pelo animal e a contribuição dos diferentes tecidos a esse fluxo demonstram que a glicose é um substrato energético principalmente para a mucosa do ID (BRITTON e KREHBIEL, 1993; OKINE et al., 1994), e na maior parte das condições dietéticas, o TGI é um consumidor líquido de glicose (diferença A-V negativa) (PARKER, 1990).

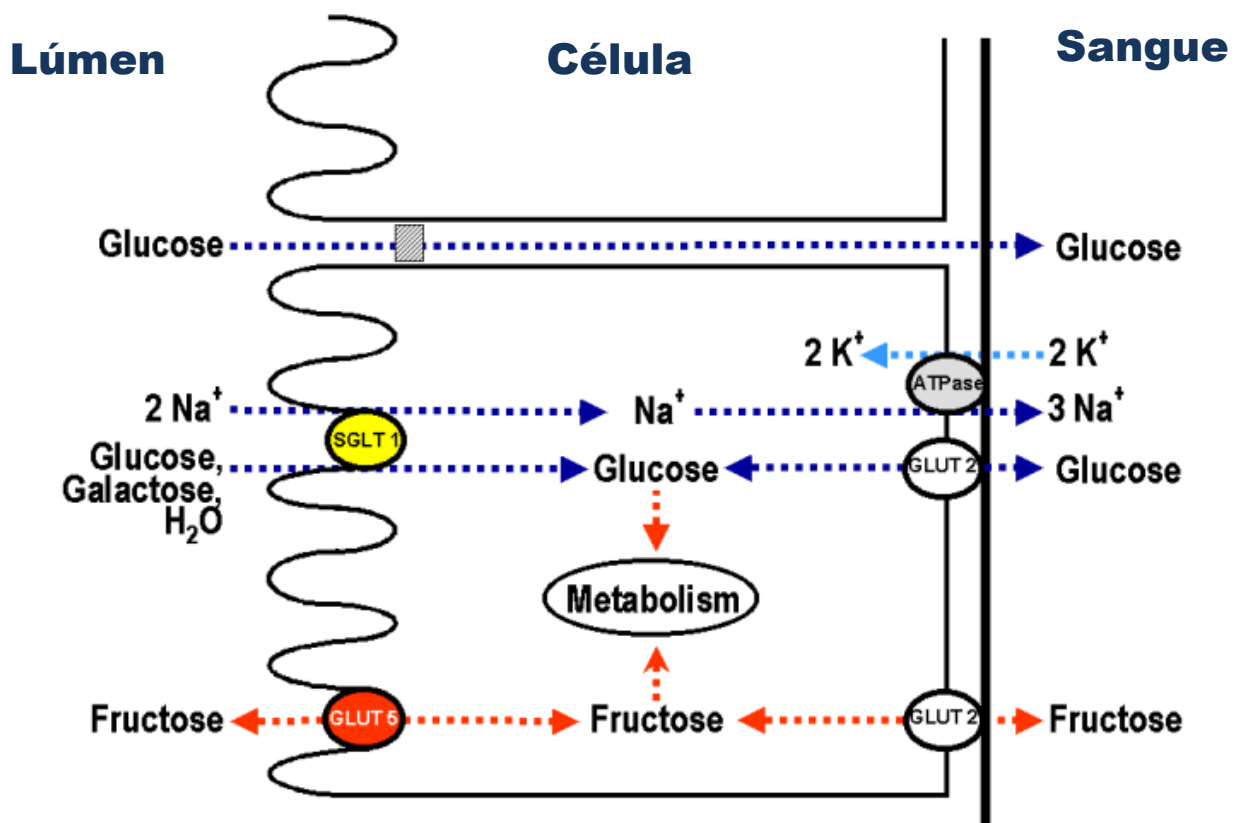


Figura 3 – Transporte de glicose para os enterócitos.

O transportador dependente de  $\text{Na}^+$  (SGLT1) está localizado na membrana apical e transporta dois  $\text{Na}^+$  acoplados com glicose, ou galactose e água. Este transporte é realizado a favor do gradiente de  $\text{Na}^+$ , que é mantido pela atividade de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase. HARMON e McLEOD, (2001).

A glicose é absorvida do lúmen intestinal para os enterócitos principalmente utilizando uma proteína transportadora dependente de sódio (SGLT1), e a favor do gradiente de concentração de sódio (Figura 3). A manutenção do gradiente de concentração da membrana das células do epitélio depende da expulsão dos íons  $\text{Na}^+$  do citoplasma para o sangue, através da atividade de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPases, envolvendo gasto de ATP (HARMON e McLEOD, 2001).

Os ruminantes possuem exigências de glicose semelhantes aos monogástricos, contudo, absorvem pouca glicose no ID. Desse modo, o fígado produz aproximadamente 85% da glicose utilizada pelo organismo nos ruminantes e esta é resultante de duas vias metabólicas: a síntese *de novo* de glicose (Figura 4) e o catabolismo do glicogênio (glicogenólise) (ORTIGUES-MARTY et al., 2003).

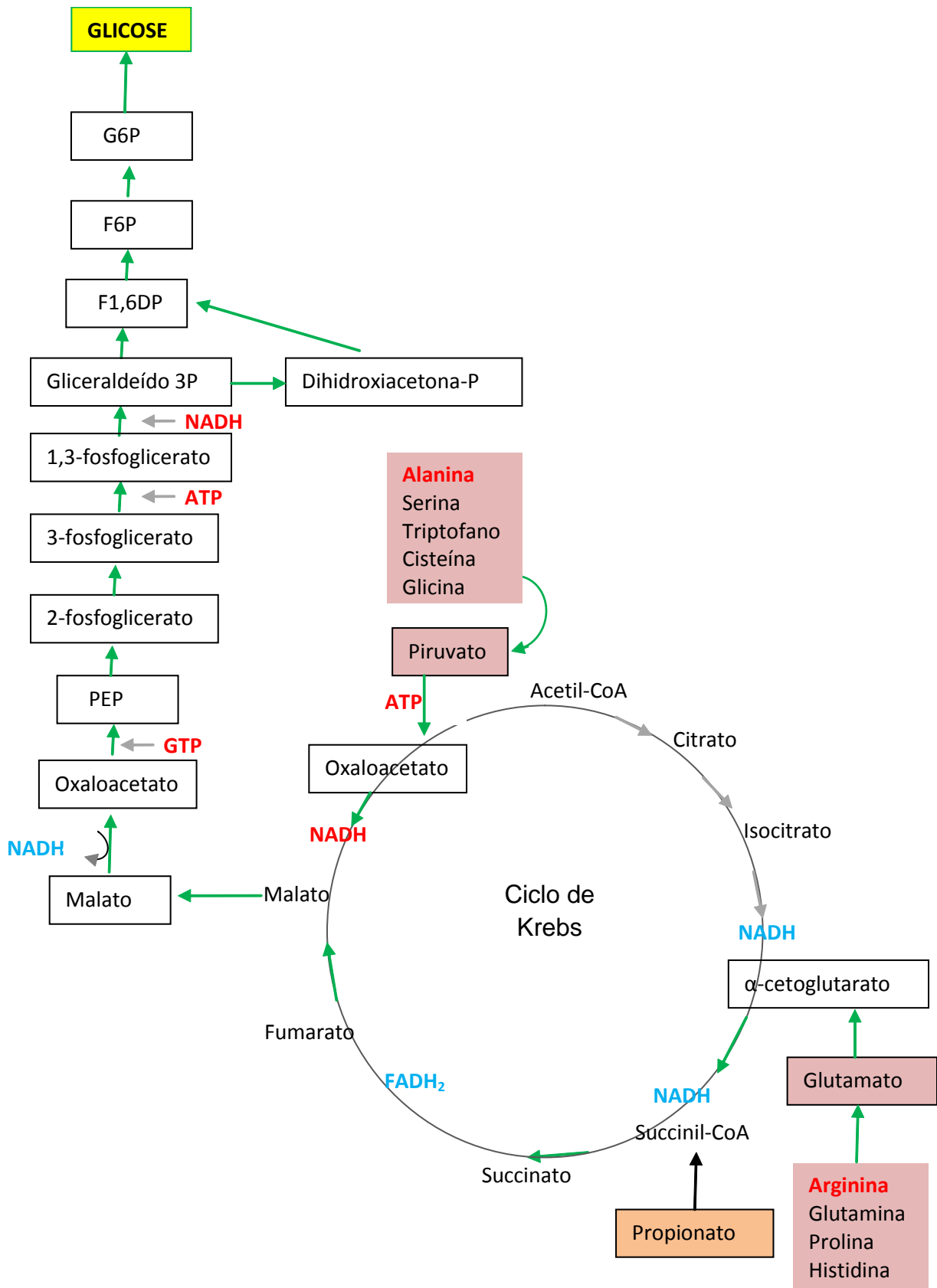


Figura 4 – Representação esquemática da rota neoglicogênica. Adaptado de Nelson e Cox (2004).

Os principais precursores hepáticos da síntese de glicose são o propionato; cerca de 70%, (HUNTINGTON et al., 2006), lactato e AA. Dos AA, alanina e glicina são os que contribuem prioritariamente à síntese de glicose (LARSEN e KRISTENSEN, 2009). Entretanto, essa contribuição é extremamente variável; 2-40% (DANFAER et al., 1995), e isto pode ser oriundo tanto da diferença entre contribuição potencial e real dos AA, quanto das condições fisiológicas e nutricionais quando da utilização dos AA na síntese de glicose (KRAFT, 2009). Um ponto importante a destacar é que o propionato é totalmente de origem exógena (fermentação ruminal dos carboidratos), enquanto que os AA podem ser de origem alimentar ou endógena.

A produção líquida de glicose pelo fígado é estimada pelas diferenças de concentração artério-venosa, multiplicado pelo fluxo de sangue. Contudo, o balanço líquido de glicose é o resultado da gliconeogênese, da utilização de glicose pelos hepatócitos (notavelmente sua incorporação em glicogênio) e da emissão de glicose pela glicogenólise, e somente pode ser estimado precisamente com a utilização de moléculas marcadas, como por exemplo,  $^2\text{H}_2\text{O}$  (KRAFT, 2009).

### 2.3.3 Compostos nitrogenados

#### 2.3.3.1 Amônia

Os microrganismos presentes no rúmen necessitam de uma fonte de N para a síntese de suas proteínas celulares. As bactérias celulolíticas utilizam exclusivamente amônia como fonte de N, enquanto que as que degradam carboidratos não fibrosos podem utilizar além da amônia, aminoácidos e peptídeos livres no fluido ruminal (RUSSELL et al., 1992). A uréia reciclada para o TGI pode igualmente ser utilizada para a síntese das proteínas microbianas.

Como os polissacarídeos, a degradação das proteínas no rúmen é efetuada pela ação proteolítica de sistemas multienzimáticos associados principalmente à membrana celular das bactérias, liberando peptídeos e aminoácidos livres, que são transportados para o interior das células bacterianas (KOZLOSKI, 2009). Os

peptídeos são degradados a aminoácidos por peptidases e estes podem ser incorporados à proteína bacteriana ou serem desaminados produzindo ácidos graxos voláteis, CO<sub>2</sub> e principalmente amônia (TAMMINGA et al., 1995). A amônia que não é incorporada nos compostos nitrogenados microbianos é em grande parte, absorvida passivamente através do epitélio ruminal e entra na circulação portal (KOZLOSKI, 2009).

Uma fração da proteína da dieta não é degradada no rúmen e será digerida no abomaso e intestino delgado, liberando AA e oligopeptídeos (STORM e ORSKOV, 1983). Estes são absorvidos da luz intestinal para os enterócitos principalmente através de sistemas de transporte ativo, dependente de sódio ou prótons, e a favor do gradiente de concentração de sódio e prótons. Alguns autores mensurando o custo energético da absorção de AA, reportam o valor de 1 mol ATP/mol AA transportado (MILLWARD et al., 1976). Contudo, isso pode ser um valor superestimado, visto que o transporte de um AA para dentro da célula é associado com a movimentação de apenas um Na<sup>+</sup> a favor do seu gradiente de concentração, enquanto que a ação das Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPases catalizam a remoção de três Na<sup>+</sup> para fora da célula por mol de ATP hidrolisado (GILL et al., 1989).

Praticamente toda a amônia presente na circulação portal é captada pelo fígado. Uma pequena parte da amônia é utilizada em reações de transaminação para a síntese de compostos protéicos, mas a maior parte é convertida em uréia (KOZLOSKI, 2009).

### 2.3.3.2 Uréia

O papel da ureagênese hepática no metabolismo de N é prevenir que a amônia passe pelo fígado e atinja a circulação periférica em níveis tóxicos ao animal e prover uma via de excreção dos AA que estão em excesso às exigências corporais (LOBLEY et al., 2000).

A organização espacial das células hepáticas permite uma separação relacionada ao metabolismo da amônia e a síntese de uréia. Devido a alta constante de saturação (*K<sub>m</sub>*) da enzima carbamoil fosfatase 1 (CPS1) para amônia (i.e. 1-2 mM), o Ciclo da Uréia (Figura 5) proporciona um sistema de alta capacidade e baixa

afinidade para a remoção de amônia (LOBLEY et al., 2000). Em contraste, as quantidades limitadas de glutamina sintetase nas células perivenosas, com um baixo *Km* para amônia (0,1 a 0,3 mM), oferece um segundo sistema, de alta afinidade e baixa capacidade, para captação da amônia (LOBLEY et al., 2000). Em conjunto, os dois sistemas permitem remoção de aproximadamente 98% da amônia presente na circulação portal em cada passagem pelo fígado (NIETO et al., 1996)

A ureagênese hepática depende da entrada balanceada de N no ciclo da uréia advindo de dois precursores: amônia mitocondrial e aspartato citosólico (MILANO et al., 2000). A amônia provém do aporte diretamente através da veia porta (atividade dos microorganismos ruminais) e da desaminação oxidativa de AA no fígado. O aspartato pode ser oriundo do trato gastrointestinal ou produzido em reações de transaminação do glutamato com o  $\alpha$ -cetoglutarato (LOBLEY et al., 2000). O glutamato pode ser oriundo da dieta, como também ser produzido nos hepatócitos periportais a partir de amônia e  $\alpha$ -cetoglutarato (MEIJER et al., 1990). A contribuição líquida da amônia à síntese de uréia hepática é de aproximadamente 53 – 91% em bovinos e somente 7 – 37% nos ovinos (MILANO et al., 2000). Isto implica que, nos ovinos em particular, uma fonte alternativa de N (os AA) é necessária para permitir a síntese de uréia. Desse modo, os fatores dietéticos que determinam um aumento da absorção de AA e/ou amônia, ou baixo consumo de EM, assim como todos os fatores relacionados ao animal que determinam alta demanda por energia e/ou baixa demanda por AA para a síntese protéica, resultam em aumento da síntese de uréia pelo fígado (KOZLOSKI, 2009).

#### **2.4 Efeito do nível de consumo sobre o gasto de energia pelo sistema visceral**

Os TDVP e o fígado ocupam um papel central na assimilação dos alimentos ingeridos, através dos processos de digestão, absorção e metabolismo (Tabela 6).

Em uma revisão de dados da literatura, Johnson et al. (1990) concluíram que o gasto de energia pelos TDVP aumenta com o aumento no consumo de EM, e que essas alterações são paralelas as mudanças no consumo total de O<sub>2</sub> pelo animal.



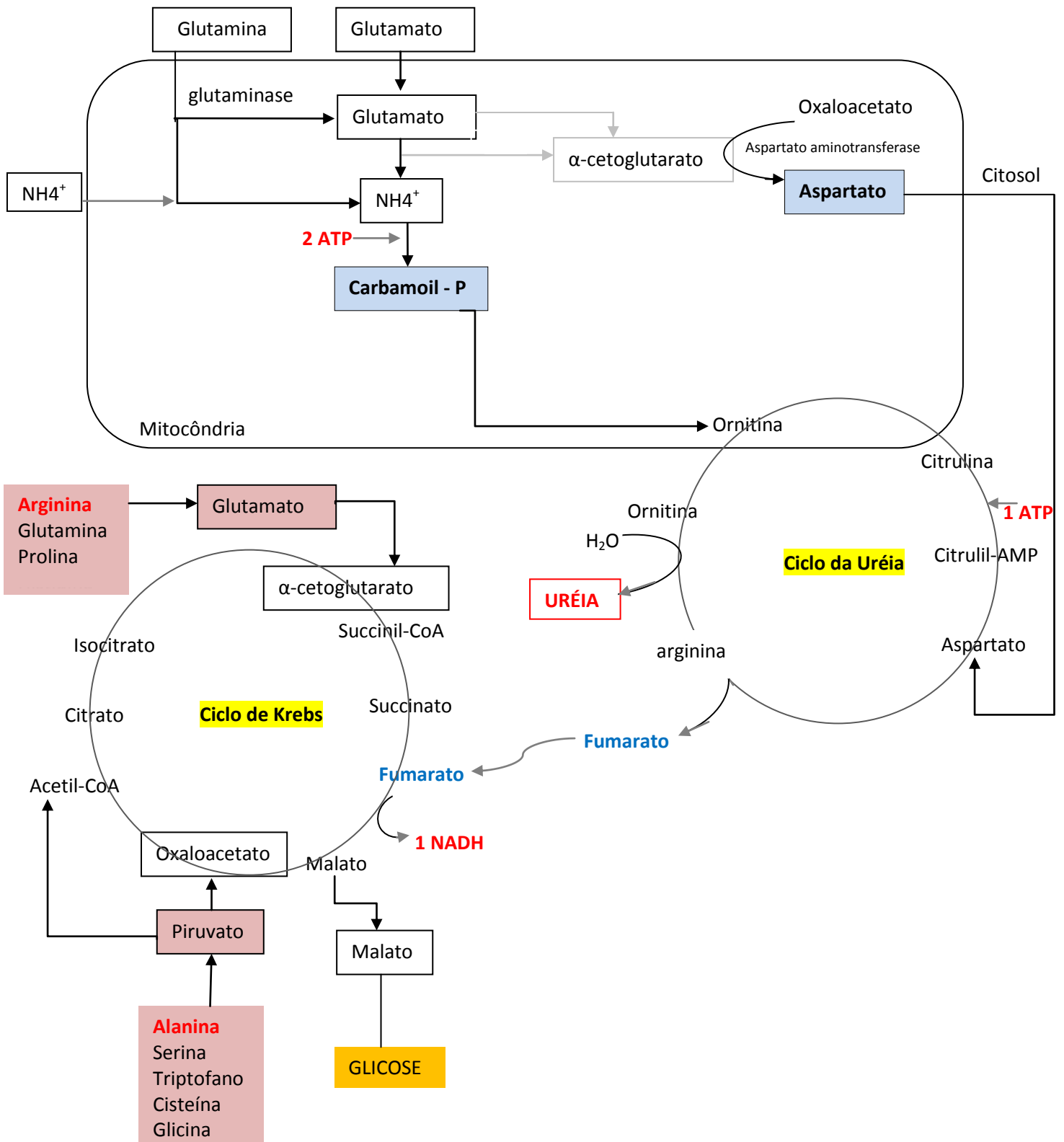


Figura 5 – Representação esquemática do Ciclo da Uréia e sua ligação com o Ciclo de Krebs. Adaptado de Nelson e Cox (2004)

Do mesmo modo, outros autores reportaram aumento em consumo de O<sub>2</sub> pelos TDVP em resposta ao aumento no nível de consumo (WEBSTER et al., 1975; HUNTINGTON e TYRRELL, 1985; HUNTINGTON et al., 1988; SEAL e REYNOLDS, 1993; HAN et al., 2002; LINDSAY e REYNOLDS, 2005; EL-KADI et al., 2009). Kelly et al. (1993), também observaram aumento no gasto de O<sub>2</sub> portal em ovinos submetidos a jejum por 48 h em relação ao grupo de animais alimentados. Porém, não houve diferença entre os alimentados (1X e 2X a manutenção), e a contribuição dos TDVP no gasto total de O<sub>2</sub> dos animais em jejum foi superior aos alimentados 1X e 2X a manutenção (i.e 47% vs. 31 e 22%, respectivamente). Eisemann e Niebaber (1990) alimentaram bovinos com dois níveis de EM (alto e baixo), seguido de jejum por 3 dias, e observaram redução de 41 e 50% na utilização de O<sub>2</sub> pelos TDVP com o jejum, respectivamente. Já Bermingham et al. (2008) em uma metanálise de dados de experimentos com ruminantes, reportaram um platô em consumo de O<sub>2</sub> quando a ingestão de matéria seca foi superior a 20 g/kg PV/d, e uma correlação negativa entre o consumo e o coeficiente de regressão do gasto de O<sub>2</sub> portal, sugerindo que o uso de O<sub>2</sub> tende a diminuir com o aumento do nível de consumo. Por outro lado, outros autores não observaram efeito do nível de consumo sobre o uso de O<sub>2</sub> pelos TDVP *in vivo* (Burrin et al., 1989; Reynolds et al., 1991b) e *in vitro* (BURRIN et al., 1990).

Ortigue e Durand, (1994) alimentaram ovinos durante três semanas ao nível de manutenção, em sequência, restringiram a oferta de alimento para 0,5X a exigência de EM de manutenção por 7,5 semanas, e observaram redução de 38% no gasto hepático de O<sub>2</sub> com a restrição de alimento, maior do que o decréscimo observado nos TDVP (i.e. 34%). Isso indica que no estado alimentado o fígado tende a ser mais responsivo que os TDVP (BURRIN et al., 1989; REYNOLDS et al., 1991b), enquanto que no jejum, o uso hepático de O<sub>2</sub> foi apenas ligeiramente reduzido (LOMAX e BAIRD, 1983) ou não foi afetado (EISEMANN e NIENABER, 1990). A partir de mudanças no nível de consumo, a resposta dos TDVP pode primariamente ser controlada pela quantidade de nutrientes absorvidos, enquanto que a do fígado irá depender também do balanço entre nutrientes disponibilizados, o que determina a orientação das vias metabólicas no fígado (ORTIGUES e DURAND, 1994). De fato, durante o jejum, enquanto os TDVP diminuem mais sua atividade, o fígado necessita manter uma alta taxa metabólica, especialmente para a produção de glicose, detoxificação de amônia em uréia e cetogênese (ORTIGUES e DURAND, 1994).

As variações em gasto de O<sub>2</sub> com mudanças no nível de consumo podem estar relacionadas a mudanças na taxa metabólica dos componentes do gasto energético e/ou alterações no tamanho dos órgãos do sistema visceral, especialmente o fígado. Alguns estudos reportam que a taxa metabólica nos tecidos viscerais é influenciada pela variação no nível de consumo em ovinos (GRAHAM et al., 1974); (MARSTON, 1948). Outros reportam que o aumento no consumo *in vivo* de O<sub>2</sub> hepático dos animais alimentados *ad libitum* em relação aos alimentados 1X a manutenção, foi primariamente resultado do aumento no peso do fígado e não sua taxa de atividade metabólica (BURRIN et al., 1989; BURRIN et al., 1990). McBride e Milligan, (1985a,b) não encontraram diferenças em consumo total de O<sub>2</sub> *in vitro* de células isoladas da mucosa duodenal e hepatócitos, em reposta ao nível de consumo, incluindo jejum por 48 h e 5 dias. De maneira similar, McLeod e Baldwin, (2000) alimentaram cordeiros ao nível de 1X e 2X a exigência de EM manutenção e não verificaram aumento no consumo *in vitro* total de oxigênio de células isoladas do rúmen e intestino (duodeno, jejuno e íleo) com o aumento no nível de consumo, e afirmam que esses resultados indicam que a capacidade oxidativa das células permanece constante apesar das mudanças no “status” dos tecidos (peso corporal constante vs. crescimento) devido ao consumo de EM. Nesse mesmo estudo, foram observadas mudanças na massa dos órgãos do trato digestivo, indicando que o aumento no consumo de O<sub>2</sub> pelos TDVP com o aumento no nível de consumo, refletiu mudanças no peso dos órgãos e não em sua capacidade oxidativa.

Em um experimento cordeiros foram separados em dois grupos: um foi alimentado com um alto nível de consumo por seis semanas e depois passou a receber um nível baixo de consumo por mais seis semanas, e o outro grupo o contrário; recebeu primeiro o nível de consumo baixo e depois o alto. Ao final do experimento, os animais possuíam o mesmo peso corporal, entretanto, os que foram alimentados no esquema baixo-alto apresentaram exigência de manutenção 32% superior aos alimentados no esquema alto-baixo. Isso, semelhante aos trabalhos de Burrin et al., (1988,1990), McLeod et al., (2000), foi explicado pelo maior peso de órgãos metabolicamente ativos nos cordeiros alimentados com o maior nível de consumo no período final do experimento (FERRELL et al., 1983).

Tabela 6 – Efeito do nível de consumo sobre o gasto de energia nos TDVP e fígado (% do consumo total de O<sub>2</sub> corporal).

Referência	Animal	Estado fisiológico	Nível de consumo	Gasto de energia,% do total corporal	
				TDVP	Fígado
<i>Bovinos (in vivo)</i>					
(EISEMANN e NIENABER, 1990)	Novilhos	Adulto	Alimentado	22,7	20,6
	Novilhos		Jejum	18,9	25,8
(REYNOLDS et al., 1991b)	Novilhas	Adulto	Alfafa, baixo consumo	25,8	18,5
			Alfafa, alto consumo	27,5	26,3
			Concentrado, baixo consumo	23,8	20,6
			Concentrado, alto consumo	22,6	21,6
(HUNTINGTON e TYRRELL, 1985)	Vacas	Vaca seca	Ad libitum	18,5	-
(HUNTINGTON et al., 1988)	Novilhos	Adulto	Baixo consumo	24,1	-
			Alto consumo	26	-
(HUNTINGTON et al., 1990a)	Novilhos	Crescimento	Alimentado	24	23,5
			Jejum	22,5	30,9
<i>Ovinos (in vitro)</i>					
(MCBRIDE e MILLIGAN, 1985b)	Borregos	Crescimento	Jejum	28,6	
			Alimentado	48,1 – 61,3	

Referência	Animal	Estado fisiológico	Nível de consumo	Gasto de energia,% do total corporal	
				TDVP	Fígado
Ovinos ( <i>in vivo</i> )					
(BURRIN et al., 1989)			2X manutenção	22	-
			Ad libitum	28	41
(THOMPSON et al., 1975)	Carneiros	Adulto	1X manutenção, exposição frio moderado	-	13,9
(THOMPSON et al., 1978)	Carneiros	Adulto	1X manutenção, exposição frio agudo	18,5	21,5
(ORTIGUES e DURAND, 1994)	Ovelhas	Adulto,	1X manutenção	31	25,5
		não-lactante	0,5X manutenção	27,5	22,6
(KELLY et al., 1993b)	Ovelhas	Adulto,	Jejum	47	-
		não-lactante	1X manutenção	31	-
			2X manutenção	22	-

## **CAPÍTULO 1**

## **AValiação DO EFEITO DO NÍVEL DE CONSUMO SOBRE O METABOLISMO ENERgÉTICO VISCERAL**

### **RESUMO**

O nível de consumo de alimento é um dos principais fatores impactando o gasto de  $O_2$  pelos tecidos do sistema visceral. Três ovinos machos, adultos, da raça Polwarth ( $42 \pm 4.4$  kg PC), alojados em gaiolas de metabolismo e alimentados com feno de Tifton foram utilizados em um delineamento Quadrado Latino 3 x 3 com um período adicional, para avaliar o efeito do nível de consumo de forragem sobre o fluxo de sangue e o gasto de  $O_2$  pelo sistema visceral em ovinos. Os animais foram implantados cirurgicamente com catéteres permanentes nas veias mesentérica, porta e hepática e uma das carótidas. Os tratamentos consistiram de 7, 14 ou 21 g matéria seca (MS) de feno de Tifton /kg PC/dia, ofertados em quatro porções diárias iguais, a cada 6 h. O fluxo de sangue nos TDVP aumentou linearmente ( $P < 0,05$ ) com o aumento no consumo de matéria orgânica (MO), enquanto que o fluxo de sangue hepático-arterial e visceral total não foram afetados. O gasto de  $O_2$  pelos TDVP foi positivamente ( $P < 0,05$ ) relacionado com o consumo de MO, entretanto, o fígado e os tecidos viscerais não tiveram seu consumo de  $O_2$  alterado significativamente. O gasto de  $O_2$  relacionou-se linearmente com o fluxo de sangue ( $P < 0,05$ ) nos TDVP, fígado e tecidos viscerais. A proporção de EM consumida gasta como calor pelos TDVP e fígado diminuiu com o aumento no consumo de EM. Aliado a isto, essa redução ocorreu de forma curvilínea, e a diferença entre a produção de calor visceral e dos TDVP reduziu com o aumento no consumo de EM. Estes resultados indicam que o metabolismo oxidativo dos tecidos viscerais é mediado pela taxa de fluxo sanguíneo. Além disso, o impacto do metabolismo visceral sobre o gasto de energia em ovinos é maior quanto menor for o nível de consumo de forragem tropical.

**Palavras-chave:** fígado, gasto de  $O_2$ , metabolismo, ovinos, tecidos drenados pela veia porta.

## ABSTRACT

Feed intake level is a major factor affecting the oxygen consumption by the splanchnic tissues. Three adult male Polwarth wethers ( $42\pm 4.4$  kg BW), housed in metabolism cages and offered Tifton hay were used in a 3 x 3 Latin Square design with one additional period to evaluate the effect of level of forage intake on blood flow and oxygen consumption by the splanchnic tissues of sheep. Wethers were surgically implanted with chronic indwelling catheters into the mesenteric, portal and hepatic veins and one carotids. Treatments consisted of 7, 14 or 21 g dry matter (DM) Tifton hay/kg BW/day, offered in four equal daily meals, every 6 h offered in four equal daily meals, every 6 hours. The wethers were weighed once weekly and intakes adjusted for BW changes. Blood flow across PDV was linearly ( $P<0.05$ ) related to OM intake, whereas the hepatic-arterial and total ST blood flow were not affected. Oxygen expenditure by PDV was directly ( $P<0.05$ ) related to OM intake, while oxygen consumption by the liver was not affected. Oxygen expenditure was linearly ( $P<0.05$ ) related to blood flow across tissues for PDV, liver and total ST. The proportion of MEI spent as heat by PDV and total ST reduced when MEI increased. In addition, this reduction occurred in a curvilinear manner and the difference between PDV and ST heat production reduced at increased MEI. These results indicate that the oxidative metabolism of the ST is mediated by the blood flow rate. Furthermore, the impact of the visceral metabolism on the energy expenditure in sheep is lower as greater the forage intake level.

**Key words:** liver, metabolism, oxygen consumption, sheep, portal drained viscera.



## INTRODUÇÃO

Os tecidos viscerais participam com uma alta proporção no consumo de O<sub>2</sub> total pelo animal (HUNTINGTON et al., 1990b) e desse modo, seu metabolismo impacta de forma significativa a eficiência de utilização da energia pelos ruminantes (JOHNSON et al., 1990). Os dados de literatura indicam uma forte e positiva relação entre o nível de consumo, o fluxo de sangue visceral e consumo de O<sub>2</sub> pelos tecidos viscerais (BERMINGHAM et al., 2008). Além disso, estudos prévios também apontam que o efeito do nível de consumo sobre a atividade metabólica e o gasto de energia não é similar para os tecidos drenados pela veia porta (TDVP) e fígado (JOHNSON et al., 1990). Entretanto, a maior parte dessas informações foi obtida a partir de compilações de dados de literatura que incluem estudos com animais alimentados com diferentes dietas. Poucos estudos in vivo foram delineados especificamente para avaliar o efeito do nível de consumo sobre o metabolismo dos tecidos viscerais e nenhum estudo foi encontrado com ovinos alimentados com gramíneas tropicais.

Esse ensaio foi proposto com o objetivo de avaliar o efeito de níveis crescentes de consumo de forragem sobre o gasto de O<sub>2</sub> pelos tecidos viscerais em ovinos alimentados com feno de tifton (*Cynodon sp.*). A hipótese estabelecida é que o aumento do nível de consumo de forragem tropical aumenta o gasto de O<sub>2</sub> pelo sistema visceral em ruminantes.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Animais, dieta e tratamentos

Foram utilizados três ovinos machos, adultos, castrados, da raça Polwarth (42±4.4 kg PC), implantados cirurgicamente com catéteres permanentes nas veias mesentérica, porta e um dos ramos da veia hepática (HUNTINGTON et al. 1989). Uma das carótidas foi dissecada e posicionada próxima à pele para a coleta de

sangue arterial. Após as cirurgias os animais passaram por um período de recuperação de duas semanas, durante as quais, a temperatura retal e o estado de saúde dos animais foram monitorados diariamente. Durante este período os animais permaneceram em baias coletivas, recebiam uma dieta à base de feno de Tifton e concentrado e tinham livre acesso à água e sal mineral. Passado o período de recuperação, os animais foram alojados em gaiolas individuais de metabolismo, com água e sal mineral sempre disponível. Antes do início dos períodos experimentais, os animais foram adaptados as gaiolas de metabolismo e ao sistema de alimentação e manejo por uma semana.

O experimento foi conduzido com períodos de 18 dias (12 dias de adaptação, seis dias de coletas de dados e amostras), em um delineamento Quadrado Latino 3 x 3, com um período adicional de 18 dias. A dieta foi constituída de feno de Tifton contendo (g/kg de MS): matéria orgânica (MO), 897; N, 19 e fibra em detergente neutro (FDN), 734. Os tratamentos consistiram de 7, 14 ou 21 g matéria seca (MS) de feno de Tifton /dia/kg de PC. Essas quantidades foram divididas em quatro porções iguais e ofertadas diariamente a cada seis horas. Os animais foram pesados semanalmente e as quantidades de forragem ofertada foram ajustadas às mudanças no PC.

#### Coleta de amostras

O alimento ofertado e eventuais sobras foram pesados diariamente durante o experimento. O ensaio de digestibilidade foi conduzido entre os dias 12 a 17 de cada período experimental. Nesse período, as fezes foram coletadas diariamente, e armazenadas em câmara fria a -20 °C, dentro de recipientes plásticos com tampa. Ao final de cada período experimental as fezes foram descongeladas, pesadas e uma amostra representativa foi coletada. Todas as amostras foram secas a 55 °C durante pelo menos 72 h em estufa de ventilação forçada, e moídas (moinho tipo Willey, Arthur H. Thomas, Philadelphia, PA) em peneira com porosidade de 1 mm para as análises químicas. Na manhã do 18º dia de cada período experimental foi implantado um catéter (18 gauges, 1,3mm de diâmetro. e 4,8cm comprimento, Becton Dickinson, MG, Brasil) temporário na artéria carótida, acoplado a uma

extensão com uma torneira de três vias. O fluxo de sangue através dos TDVP e fígado foi medido pela infusão na veia mesentérica de 15 mL (*primed*), seguido de infusão contínua (1,5 mL/minuto) de uma solução de paraminohipurato (PAH) a 1,5 % (p/v), pH 7,4, com auxílio de uma bomba peristáltica. O PAH (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) foi preparado utilizando-se água destilada e hidróxido de sódio (NaOH) (HUNTINGTON et al., 1989), filtrado em filtros de celulose (tipo), o pH foi ajustado a 7,4 com NaOH ou ácido clorídrico (HCl), posteriormente foi autoclavado (120°C por 20 minutos) e armazenado a 4 °C em frascos de vidro até das infusões.

O PAH foi infundido nos animais utilizando-se equipos esterelizados (Cale Parmer), equipados com um filtro (0,45 µm) acoplado na extremidade do equipo. A patência dos catéteres durante as coletas de sangue foi mantida por *flushing* com soro fisiológico e entre os períodos de coleta por *flushing* com soro fisiológico contendo 200 IU heparina, 0.01 mL penicillina and 0.01 mL de álcool benzílico/mL soro fisiológico (HUNTINGTON et al., 1989). Imediatamente antes da oferta do alimento, e a cada hora durante 5 horas após a oferta do alimento foram obtidas amostras simultâneas de sangue portal, hepático e arterial com seringas heparinizadas. De cada catéter foram coletadas duas amostra, uma em seringa de 1 mL e outra em seringa de 10 mL. As amostras de 1 mL foram mantidas em suas respectivas seringas em caixas de isopor com gelo e encaminhadas para análise gasométrica num prazo máximo de 1 hora. As amostras de 10 mL foram transferidas para tubos cônicos de centrifuga contendo fluoreto de sódio (NaF), centrifugadas a 2200 × g por 20 minutos, e o plasma coletado e armazenado a -20°C para posterior análise.

### Análises químicas

O teor de MS das amostras de alimento, sobras e fezes foi determinado por secagem em estufa a 105 °C durante pelo menos 16 h. O conteúdo de cinzas foi determinado por combustão a 600 °C durante 3 h. A análise gasométrica das amostras de sangue incluiu, entre outras, saturação de O<sub>2</sub>, p(O<sub>2</sub>), p(CO<sub>2</sub>), e concentração de hemoglobina e foi realizada em equipamento automático (AVL 990 Busy, Austria). Para a análise do PAH, as amostras de plasma foram descongeladas

e uma alíquota de 500 µL foi desproteïnizada com 4500 µL de ácido tricloroacético 0,611 M e centrifugada a 2200 × g por 20 minutos. O sobrenadante foi coletado e analisado para a concentração de PAH utilizando método colorimétrico descrito por HUNTINGTON et al., (1982).

## Cálculos

O consumo de forragem foi calculado como a diferença entre a quantidade de forragem ofertada diariamente (g/dia) menos as sobras (g/dia).

O consumo de matéria orgânica (MO) foi calculado como:  $CMO = [(\%MO \text{ na forragem}/100) \times \text{consumo de matéria seca}]$ .

A digestibilidade da matéria orgânica (DMO) foi calculada como:

$$DMO = [(\text{Consumo de MO (g/dia)} - \text{MO nas fezes (g/dia)}) / CMO \text{ (g/dia)}]$$

O consumo de MO digestível (CMOD) foi calculado como:

$$CMOD \text{ (g/d)} = \text{consumo de MO} \times \text{digestibilidade da MO}$$

O consumo de energia digestível (CED, kcal/dia) foi estimado a partir do consumo de MO digestível, como:  $CMOD \times 4,409$  e o consumo de EM (CEM, kcal/dia) calculado como:  $CED \times 0,82$  (NRC, 2001).

O fluxo de sangue (FS) através dos TDVP, fígado e tecidos viscerais (TV) foi calculado de acordo com (KATZ e BERGMAN, 1969) como:

$$FS \text{ (L/h)} = IRPAH / (VPAH - APAH)$$

onde, IRPAH é a taxa de infusão do PAH (mg/h), VPAH e APAH são a concentração de PAH (mg/L) nos sangues venosos (portal ou hepático) e arterial, respectivamente.

A concentração de  $O_2$  (mL/L) foi calculada (HUNTINGTON e TYRRELL, 1985) como:

$$O_2 \text{ (mL/L)} = [(\% O_2/100) \times 1,34 \times Hgb + (0,023 \times (pO_2/760 \text{ mmHg})) \times 1000]$$

onde, %  $O_2$  é a percentagem de saturação de  $O_2$ , 1,34 é a capacidade máxima de transporte de  $O_2$  pela hemoglobina (mL de  $O_2$ /g de hemoglobina), Hgb é a concentração de hemoglobina no sangue (g/L), 0,023 é o teor de  $O_2$  dissolvido no sangue (mL/mL sangue) e  $pO_2$  é a pressão de  $O_2$  (mmHg).

A utilização de O<sub>2</sub> pelos TDVP e TV foi calculada multiplicando-se o FS portal ou hepático pela respectiva diferença venosa-arterial da concentração de O<sub>2</sub>. A utilização de O<sub>2</sub> pelo fígado foi calculada como a diferença entre a quantidade utilizada pelo sistema visceral total (TV) menos a quantidade utilizada pelos TDVP.

A produção de calor (H em kcal/dia) pelos TDVP e TV foi calculada assumindo um equivalente de calor de 4,89 kcal/L de O<sub>2</sub> como:

$$H = O_2 \text{ (L/h)} \times 4,89 \times 24$$

### Análise estatística

O consumo médio de forragem em cada período experimental e em cada tratamento foi variável e, desse modo, o efeito de tratamento foi analisado como variável contínua. Para análise estatística foram utilizadas as médias de cada animal em cada período. Utilizou-se o PROC MIXED do SAS (SAS, 2002) e modelo que incluiu animais e períodos como efeitos aleatórios de classe. Quando conveniente foi utilizado o PROC NLIN para ajustar a relação entre duas variáveis contínuas a modelos exponenciais.

## RESULTADOS

O fluxo de sangue e a utilização de O<sub>2</sub> pelos TDVP aumentaram linearmente (P<0,05) com o aumento no consumo de matéria orgânica (MO), enquanto que o fluxo de sangue e utilização de O<sub>2</sub> pelo fígado e sistema visceral total não foram afetados significativamente pela variação do consumo de forragem (Figura 6).

O gasto de O<sub>2</sub> relacionou-se linearmente com o fluxo de sangue (P<0,05) nos TDVP, fígado e tecidos viscerais (Figura 7).

A proporção de EM consumida gasta como calor pelos TDVP e fígado diminuiu com o aumento no consumo de EM. Contudo, essa redução ocorreu de forma curvilínea, sendo que a diferença entre a produção de calor pelo sistema visceral total em relação ao calor liberado pelos TDVP reduziu com o aumento no

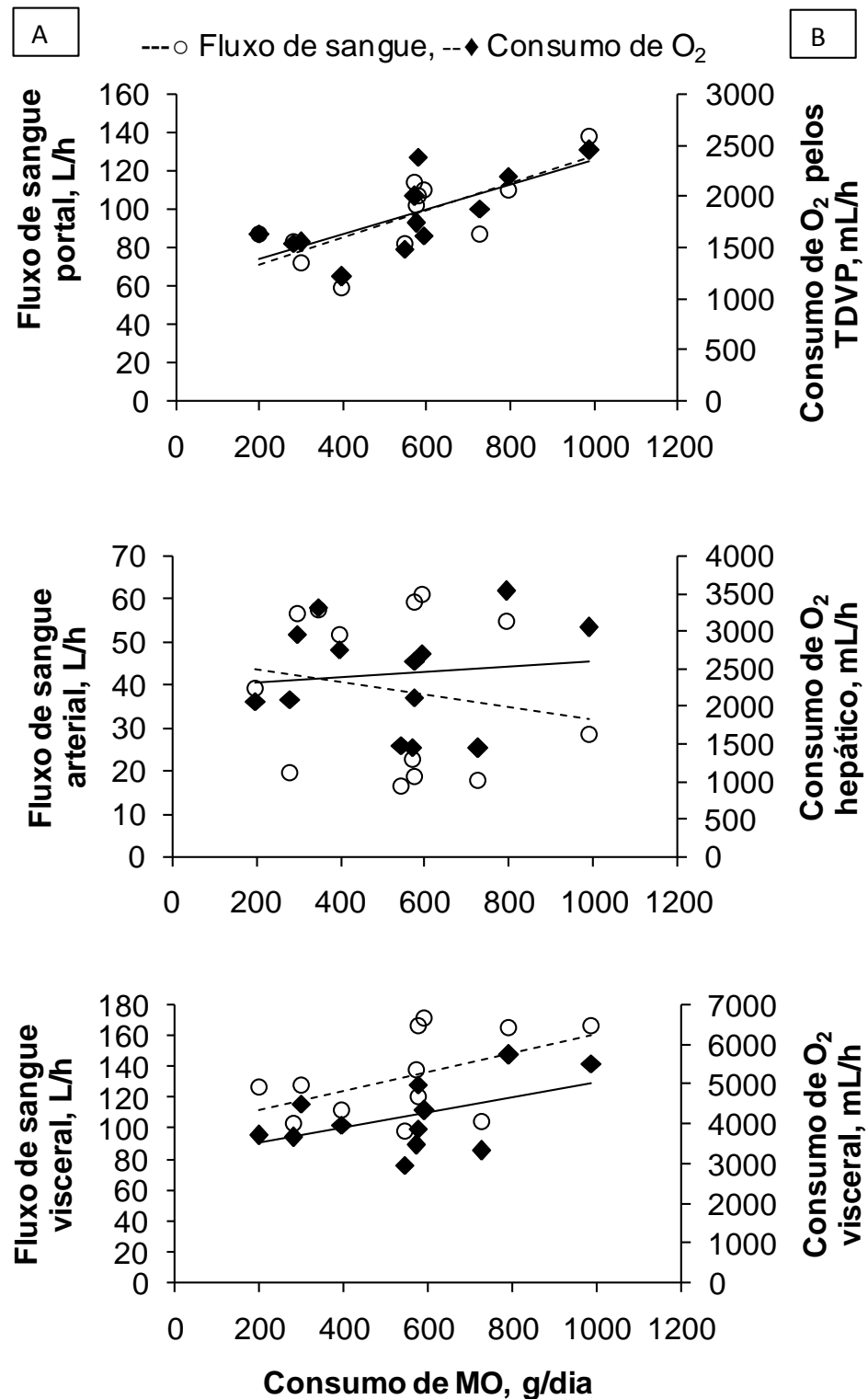


Figura 6 – Relação entre o nível de consumo de matéria orgânica (MO) e o fluxo de sangue (---○) portal;  $y = 54,1 + 0,075x$ ,  $R^2 = 0,58$ , hepático-arterial;  $y = 42,2 + 0,01x$ ,  $R^2 = 0,01$  e visceral total;  $y = 99,8 + 0,06x$ ,  $R^2 = 0,25$ ) (Painel A), e entre consumo de MO e utilização de O<sub>2</sub> (\_\_\_◆) pelos tecidos drenados pela veia porta (TDVP);  $y = 891 + 1,54x$ ,  $R^2 = 0,44$ ; fígado,  $y = 2239 + 0,35x$ ,  $R^2 = 0,01$  e tecidos viscerais;  $y = 3134 + 1889x$ ,  $R^2 = 0,24$ ) (Painel B), em ovinos (n=12) alimentados com feno de *Cynodon* sp.

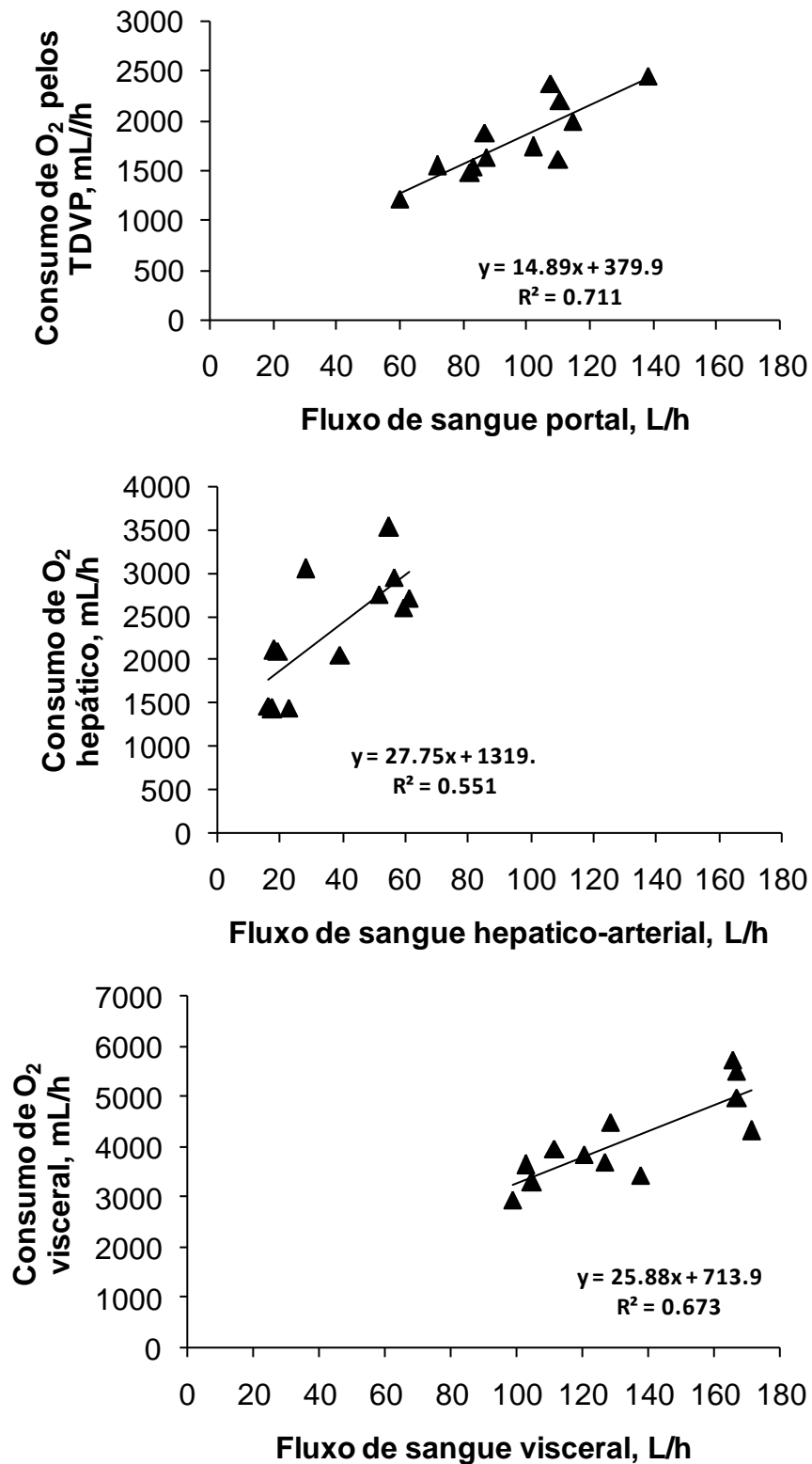


Figura 7 – Relação entre o fluxo de sangue e consumo de O<sub>2</sub> pelos tecidos drenados pela veia porta (TDVP), fígado e tecidos viscerais em ovinos (n=12) alimentados com feno de *Cynodon sp.*

consumo de EM (Figura 8). Nos níveis de consumo mais baixos o calor liberado pelos TV e TDVP representaram em torno de 100 e 40% do consumo de EM, enquanto que nos níveis mais altos de consumo de forragem, estes valores reduziram respectivamente para cerca de 35 e 15%.

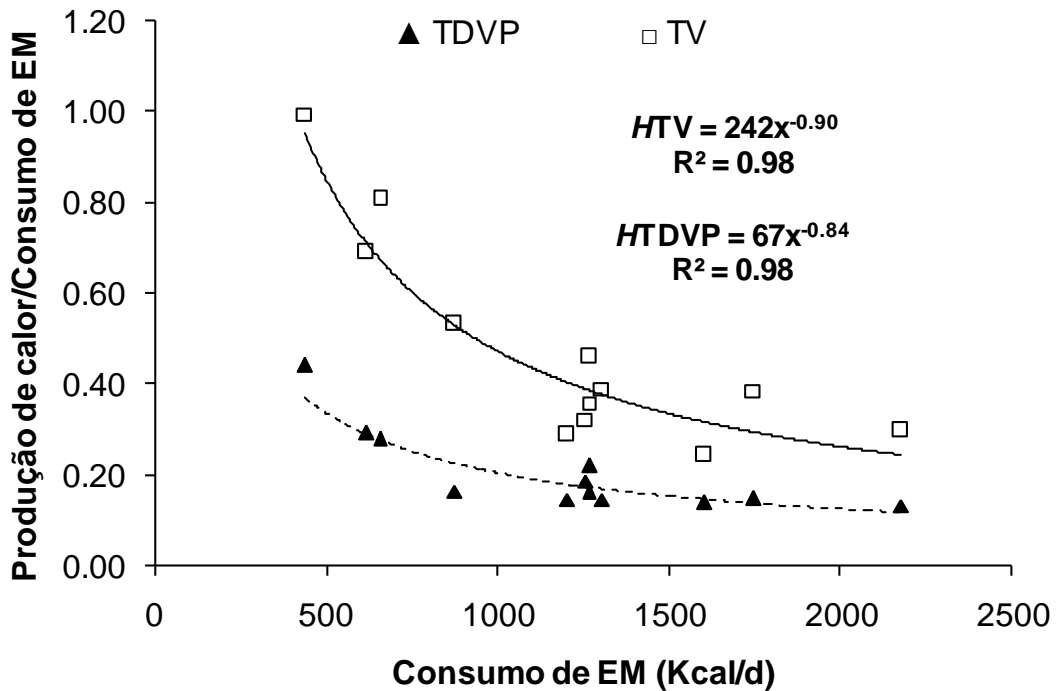


Figura 8 – Relação entre o consumo de energia metabolizável (EM) e produção de calor ( $H$ ) pelos tecidos drenados pela veia porta (TDVP,  $\blacktriangle$ ) e tecidos viscerais (TV,  $\square$ ) em ovinos ( $n=12$ ) alimentados com feno de *Cynodon sp.* Os dados nos quais os cálculos foram baseados são o consumo de energia digestível (CED, kcal/dia), calculado a partir do consumo de matéria orgânica digestível (CMOD, g/dia) como:  $CMOD \times 4,409$ , o consumo de EM (CEM, kcal/dia) calculado como:  $CEM \times 0,82$  e a produção de calor (kcal/dia) calculada assumindo um equivalente  $H$  de 4,89 kcal/L de  $O_2$  consumido.

## DISCUSSÃO

Inúmeros estudos com ovinos e bovinos reportam aumento no fluxo de sangue e gasto de  $O_2$  pelos TDVP com o aumento no nível de consumo de alimento (BARRIN et al., 1989; HUNTINGTON, 1990a; ORTIGUES, 1991). Estudos similares



apresentaram respostas lineares com grandezas de  $R^2$  similares aos observados neste estudo (REMOND et al., 1998; BERMINGHAM et al., 2008; VERNET et al., 2009). Esse comportamento é uma resposta ao aumento da atividade de digestão e absorção de nutrientes (WEBSTER et al., 1975; PRIOR et al., 1981; JOHNSON et al., 1990; REYNOLDS et al., 1991b; HAN et al., 2002). Contudo, Bermingham et al. (2008) em uma metanálise de dados com ovinos reportou que esta relação seria curvilínea, com um platô máximo de gasto de  $O_2$  em consumos de MS até em torno de 25 g de MS/kg PC/dia, decrescendo a partir disso. Isso estaria em conformidade com os resultados do presente experimento, uma vez que o nível máximo de oferta foi de 21 g de MS/dia/kg de PV.

Os fluxos de sangue são os determinantes principais da oferta de  $O_2$  aos tecidos (ORTIGUES e DURAND, 1995). De fato, as variações no gasto de  $O_2$  pelos TDVP, fígado e tecidos viscerais foram diretamente relacionados às variações no fluxo de sangue, e não à diferenças na concentração arterio-venosa de  $O_2$ . Isto implica que o metabolismo oxidativo dos tecidos viscerais é mediado por variações do fluxo de sangue.

Maior atividade metabólica tem sido implicada na resposta incremental em consumo de  $O_2$  hepático com o aumento no consumo (MILLIGAN e SUMMERS, 1986; REYNOLDS, 1995). Entretanto, o consumo de  $O_2$  total e o fluxo de sangue arterial para o fígado não foram afetados no presente estudo, indicando que o metabolismo hepático foi independente das alterações no nível de consumo. Contudo, a dieta utilizada no presente estudo foi exclusivamente de uma gramínea tropical, com relativamente baixa digestibilidade e oferta de nutrientes. Se a dieta experimental fosse rica em concentrado, é possível e plausível esperar efeito de consumo sobre o metabolismo oxidativo hepático, principalmente por um aumento da oferta de propionato e aminoácidos a partir do trato gastrintestinal. Apesar de um aumento no consumo total de  $O_2$  hepático ter sido observado em cordeiros alimentados com uma dieta rica em concentrado, este resultou primariamente da mudança no peso do fígado, do que na atividade metabólica dos tecidos hepáticos (BURRIN et al., 1989; BURRIN et al., 1990). Similarmente, (MCBRIDGE e MILLIGAN, 1985) também reportaram não haver alterações em gasto de  $O_2$  pelos hepatócitos (por g de peso seco), em cordeiros alimentados com cevada moída e feno de gramínea de estação fria (*Bromus inermis*) ao nível de manutenção ou após

jejum de cinco dias, sugerindo que a atividade metabólica do fígado não é afetada pelo consumo.

A produção de calor pelos TVDP e TV, por unidade de EM ingerida, reduziu curvilinearmente com o aumento no consumo. Esta diminuição na produção de calor por unidade de EM consumida representa uma diluição da proporção de EM que é gasta com manutenção pelos TV a consumos mais elevados. Além disso, a curvilinearidade na resposta também indica que o incremento calórico atribuído a digestão e metabolismo visceral não aumenta proporcionalmente com o aumento do consumo de forragem, sendo de maior magnitude quando o consumo de EM é mais baixo. Estes resultados estão de acordo com Goetsch (1998), que analisando dados de experimentos com ovinos alimentados *ad libitum* observaram que a eficiência do metabolismo energético dos tecidos viscerais aumentou à medida que o nível de consumo *ad libitum* aumentou, i.e., o consumo de oxigênio dos tecidos viscerais diminuiu em comparação ao uso de oxigênio total pelo animal.

O resultado mais importante do presente estudo foi a observação de que o fígado contribuiu com uma parcela bem maior no gasto total de energia pelos tecidos viscerais em consumos abaixo da manutenção, que se dilui a consumos mais altos de forragem. Este resultado sugere que menos EM é exigida para processar os substratos absorvidos do rúmen e intestinos quando os animais são alimentados em níveis de consumo mais elevados, do que para sustentar a produção de glicose e o metabolismo hepático através da oxidação de substratos endógenos quando estes são alimentados abaixo do nível de manutenção. Também é interessante notar que o gasto de energia pelo fígado, por unidade de EM consumida, decresceu de maneira mais acentuada até o nível de consumo de EM de 1250 kcal/dia, enquanto que o gasto de energia pelos TDVP nesse mesmo nível de consumo foi praticamente constante, o que sugere que os TDVP e o fígado são influenciados diferentemente pelo nível de consumo (JOHNSON et al., 1990).

## CONCLUSÃO

O metabolismo oxidativo dos tecidos viscerais é mediado pelo fluxo de sangue.

O impacto do metabolismo visceral sobre o gasto de energia em ovinos é menor quanto maior o nível de consumo de forragem tropical.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERMINGHAM, E. N.; NOZIÈRE, P.; VERNET, J. et al. The relationships between intake and net portal fluxes of energy metabolites in ruminants: A meta-analysis. **Animal Feed Science and Technology**, v. 143, p. 27-58, 2008.

BURRIN, D. G.; FERRELL, C. L.; BRITTON, R. A. et al. Level of nutrition and visceral organ size and metabolic activity in sheep. **British Journal of Nutrition**, v. 64, p. 439-448, 1990.

BURRIN, D. G.; FERRELL, C. L.; EISEMANN, J. H. et al. Effect of level of nutrition on splanchnic blood flow and oxygen consumption in sheep. **British Journal of Nutrition**, v. 62, p. 23-34, 1989.

HAN, X. T.; NOZIERE, P.; REMOND, D. et al. Effects of nutrient supply and dietary bulk on O<sub>2</sub> uptake and nutrient net fluxes across rumen, mesenteric- and portal-drained viscera in ewes. **Journal of Animal Science**, v. 80, p. 1362-1374, 2002.

HUNTINGTON, G. Energy metabolism in the digestive tract and liver of cattle: Influence of physiological state and nutrition. **Reproduction Nutrition Development**, v. 30, p. 35-47, 1990.

JOHNSON, D. E.; JOHNSON, K. A.; BALDWIN, R. L. Changes in liver and gastrointestinal tract energy demands in response to physiological workload in ruminants. **Journal of Nutrition**, v. 120, p. 649-655, 1990.

MCBRIDGE, B. W.; MILLIGAN, L. P. Magnitude of ouabain-sensitive respiration in the liver of growing, lactating and starved sheep. **British Journal of Nutrition**, v. 54, p. 293-303, 1985.

MILLIGAN, L. P.; SUMMERS, M. The biological basis of maintenance and its relevance to assessing responses to nutrients. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 45, p. 185-193, 1986.

ORTIGUES, I. Adaptation du métabolisme énergétique des ruminants à la sous-alimentation. Quantification au niveau de l'animal entier et de tissus corporels. **Reproduction Nutrition Development**, v. 31, p. 593-616, 1991.

ORTIGUES, I.; DURAND, D. Adaptation of energy metabolism to undernutrition in ewes. Contribution of portal-drained viscera, liver and hindquarters. **British Journal of Nutrition**, v. 73, p. 209-226, 1995.

PRIOR, R. L.; HUNTINGTON, G. B.; BRITTON, R. A. Influence of diet on amino acid absorption in beef cattle and sheep. **Journal of Nutrition**, v. 111, p. 2212-2222, 1981.

REMOND, D.; ORTIGUES-MARTY, I.; ISSERTY, A. et al. Technical note: Measuring portal blood flow in sheep using an ultrasonic transit time flow probe. **Journal of Animal Science**, v. 76, p. 2712-2716, 1998.

REYNOLDS, C. K. Quantitative aspects of liver metabolism in ruminants. In: W. V. Engelhardt, s. Leonhard-marek, g. Breves and d. Giesecke (ed.) ruminant physiology: Digestion, metabolism, growth and reproduction. **Enke Verlag, Stuttgart**, v., p. 351-371, 1995.

REYNOLDS, C. K.; TYRRELL, H. F.; REYNOLDS, P. J. Effects of diet forage-to-concentrate ratio and intake on energy metabolism in growing beef heifers: Whole body energy and nitrogen balance and visceral heat production. **Journal of Nutrition**, v. 121, p. 994-1003, 1991.

VERNET, J.; NOZIÈRE, P.; LÉGER, S. et al. Responses of hepatic blood flows to changes in intake in sheep: A meta-analysis. **Animal**, v. 3, p. 1387-1400, 2009.

WEBSTER, A. J.; OSUJI, P. O.; WHITE, F. et al. The influence of food intake on portal blood flow and heat production in the digestive tract of sheep. **British Journal of Nutrition**, v. 34, p. 125-139, 1975.

## **CAPÍTULO 2**

## **AValiação DO EFEITO DA INFUSÃO MESENTÉRICA DE BICARBONATO DE AMÔNIO, ALANINA E ARGININA SOBRE O METABOLISMO HEPÁTICO**

### **RESUMO**

O fígado representa menos de 3% da massa corporal em ruminantes, contudo é responsável por mais de 25% do gasto total de O<sub>2</sub> (HUNTINGTON, 1990b). Entre os processos metabólicos que demandam energia no fígado destacam-se a ureagênese e a neoglicogênese. O efeito da infusão mesentérica de bicarbonato de amônio (NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>), alanina e arginina sobre o gasto líquido de energia e fluxo de nutrientes pelo sistema visceral (tecidos drenados pela veia porta (TDVP) e fígado), foi avaliado. Quatro ovinos Corriedale (40 ± 3.8 kg BW), implantados com catéteres permanentes nas veias mesentérica, porta e hepática e uma das carótidas, alimentados com feno de aveia (*Avena sativa*) e azevém (*Lolium multiflorum* Lam) foram utilizados de acordo com um delineamento Quadrado Latino 4 x 4. Os tratamentos consistiram da infusão de 500 µL/min de solução fisiológica (controle) ou de uma solução contendo NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>, L-alanina ou L-arginina. Os fluxos portal líquido de glicose e N-uréia foram negativos, enquanto que o fluxo visceral e produção hepática destes metabólitos foram positivos, mas não foram afetados significativamente pelos tratamentos. O fluxo de O<sub>2</sub> e a produção de calor nos TDVP não diferiu estatisticamente entre tratamentos (P>0,05). Contudo, o gasto hepático de O<sub>2</sub> foi maior (P<0,05) no tratamento controle, tendendo (P=0.06) a impactar também estas variáveis pelo sistema visceral neste tratamento. A hipótese de que a ureagênese e/ou a neoglicogênese impactam o gasto de energia pelo fígado não foi comprovada no presente estudo. Aspectos metodológicos são considerados na discussão destes resultados.

**Palavras-chave:** consumo de oxigênio, fígado, gliconeogênese, ovinos, ureagênese.

## ABSTRACT

The liver represents less than 3% of all body tissues in ruminants. However, it contributes more than 25% of whole body oxygen consumption (HUNTINGTON, 1990b). Ureagenesis and gluconeogenesis are among the major metabolic processes requiring energy in the liver. The effects of mesenteric vein ammonium bicarbonate ( $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ ), alanine and arginine infusion on net splanchnic (portal-drained viscera [PDV] plus liver) energy expenditure and nutrient absorption were quantified in four multicatheterized Corriedale wethers ( $40 \pm 3.8$  kg BW) fed an oat (*Avena sativa*) ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam) hay diet using a 4 x 4 Latin Square design. Treatments consisted of infusion of 500  $\mu\text{L}/\text{min}$  of physiological saline or a solution containing  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ , L-alanine or L-arginine. PDV and liver net fluxes of glucose and urea were negative, whereas total splanchnic and hepatic production of those metabolites were positive, however, both remained unaltered by the treatments. Net flux of oxygen and heat production was not affected by the treatments in the PDV. However, hepatic oxygen consumption was higher in control treatment ( $P < 0.05$ ). Our hypothesis that ureagenesis and gluconeogenesis impact the energy consumption by the liver could be proved in the present study. Methodological aspects are considered in the discussion of those results.

**Key words:** gluconeogenesis, liver, oxygen consumption, sheep, ureagenesis.



## INTRODUÇÃO

O fígado representa menos de 3% da massa corporal em ruminantes, contudo é responsável por mais de 25% do gasto total de  $O_2$  (HUNTINGTON, 1990b). Entre os processos metabólicos que demandam energia e que predominam neste órgão destacam-se a ureagênese e a neoglicogênese. Os ruminantes dependem da gliconeogênese hepática para suprir suas demandas de glicose e quando a oferta de propionato é insuficiente, ou durante o jejum, os aminoácidos se tornam precursores significativos (WOLFF e BERGMAN, 1972). Dos aminoácidos considerados gliconeogênicos, a alanina é o mais importante (WOLFF e BERGMAN, 1972). A arginina pode contribuir com esqueletos de carbono para a síntese de glicose, entretanto, é conhecida por aumentar a eficiência de incorporação de amônia em carbamoil-fosfato (MALTBY et al., 2005).

A ureagênese requer 1 a 4 mol of ATP/ mol de ureia sintetizado, dependendo se a energia produzida pelo fumarato ao ingressar no Ciclo de Krebs é computada ou não (NELSON e COX, 2004). A produção de ureia é considerada um componente substancial do uso de  $O_2$  pelo fígado (HUNTINGTON e REYNOLDS, 1987). Já a gliconeogênese tem sido reportada contribuir com uma proporção notavelmente menor desse gasto (MCBRIDE e KELLY, 1990). Contudo, a formação de glicose a partir de alanina, representa um custo de 12 moles de ATP/ mol glicose.

Nesse contexto, o objetivo desse estudo foi avaliar o impacto da infusão mesentérica de bicarbonato de amônio, alanina ou arginina sobre o metabolismo visceral e, particularmente, sobre o gasto hepático de  $O_2$ .

## HIPÓTESES

O aumento da carga hepática de compostos nitrogenados aumenta o gasto hepático de  $O_2$  como consequência de um aumento na ureagênese e/ou gliconeogênese.

O gasto de  $O_2$  associado à síntese de ureia é menor do que o gasto de  $O_2$  relacionado à neoglicogênese.

O aumento da carga hepática de alanina tem maior impacto sobre o gasto de  $O_2$  por este órgão do que a arginina.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### Animais, dieta e tratamentos

Foram utilizados quatro ovinos machos, adultos, da raça Corriedale ( $40 \pm 3.8$  kg PC), implantados cirurgicamente com catéteres permanentes nas veias mesentérica, porta e um dos ramos da veia hepática. Uma das carótidas foi dissecada e posicionada próxima à pele para a coleta de sangue arterial. Após as cirurgias os animais passaram por um período de recuperação de duas semanas, durante as quais, a temperatura retal e o estado de saúde dos animais foi monitorado diariamente. Durante este período os animais permaneceram em baias coletivas, recebiam uma dieta à base de feno de aveia + azevém contendo (g/kg MS): matéria orgânica (MO), 934; N, 9,6 e fibra em detergente neutro (FDN), 722, e tinham livre acesso à água e sal mineral. Passado o período de recuperação, os animais foram alojados em gaiolas individuais de metabolismo, com água e sal mineral sempre disponível. Antes do início dos períodos experimentais, os animais foram adaptados às gaiolas de metabolismo e ao sistema de alimentação e manejo por uma semana.

O período experimental total foi de 19 dias, ao longo do qual o feno de aveia + azevém foi oferecido diariamente em quantidades restritas a 14 g/dia/kg de PC, dividido em quatro porções iguais diárias, a cada seis horas. Água e sal mineral eram ofertados à vontade. Entre os dias 16 a 19 do período experimental os animais foram submetidos sequencialmente e em delineamento Quadrado Latino 4 x 4 aos seguintes tratamentos: infusão na veia mesentérica durante seis horas (i.e. período entre duas refeições) de solução fisiológica (0.15M NaCl, controle) ou de solução contendo  $NH_4HCO_3$  (0.25M), L-alanina hidrocloreídrica (0.25M) ou L-arginina hidrocloreídrica (0.125M). As soluções foram infundidas continuamente com auxílio de

bomba peristáltica a uma taxa de 2 mL/min, equivalente à infusão de 500  $\mu\text{mol}$  de  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ , alanina ou arginina/min.

#### Coleta de amostras

Na manhã do 15º dia do experimento, foi implantado em todos os animais um catéter (18 gauges, 1,3mm d.e. e 4,8cm comprimento, Becton Dickinson, MG, Brasil) na artéria carótida, acoplado a uma extensão com uma torneira de três vias, que permaneceu durante todos os períodos de coleta. O fluxo de sangue através dos TDVP e fígado foi medido pela infusão na veia mesentérica de 15 mL (*primed*), seguido de infusão contínua (1,5 mL/minuto) de uma solução de paraminohipurato (PAH) a 1,5 % (p/v), pH 7,4, com auxílio de uma bomba peristáltica. O PAH (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) foi preparado utilizando-se água destilada e hidróxido de sódio (NaOH) de acordo com (HUNTINGTON et al., 1989), filtrado em filtros de celulose, o pH ajustado a 7,4 com NaOH ou ácido clorídrico (HCl), autoclavado e armazenado a 4 °C em frascos de vidro até as infusões. O PAH foi infundido nos animais utilizando-se equipos esterelizados (Cale Parmer), equipados com um filtro (0,45  $\mu\text{m}$ ) acoplado na extremidade do equipo. Imediatamente antes da oferta do alimento, e a cada hora durante 5 horas após a oferta do alimento, amostras de sangue portal, hepático e arterial foram simultaneamente coletadas em seringas heparinizadas. Duas amostras de cada catéter foram coletadas, uma em seringa de 1 mL e outra em seringa de 10 mL. As amostras de 1 mL foram mantidas em suas respectivas seringas em caixas de isopor com gelo e encaminhadas para análise gasométrica num prazo máximo de 1 hora. As amostras de 10 mL foram transferidas para tubos cônicos de centrifuga contendo fluoreto de sódio (NaF), centrifugadas a 2200  $\times g$  por 20 minutos, e o plasma coletado e armazenado a -20°C para posterior análise. A patência dos catéteres durante as coletas de sangue foi mantida por *flushing* com soro fisiológico e entre os períodos de coleta por *flushing* com soro fisiológico contendo 200 IU heparina, 0.01 ml penicillina and 0.01 mL de álcool benzílico/mL soro (HUNTINGTON et al., 1989).

## Análises químicas

A análise gasométrica das amostras de sangue incluiu, entre outras, saturação de O<sub>2</sub>, p(O<sub>2</sub>), p(CO<sub>2</sub>), e concentração de hemoglobina e foi realizada em equipamento automático (AVL 990 Busy, Austria). Para análise do PAH, as amostras de plasma foram descongeladas e uma alíquota (500 µL) foi desproteinizada com 4500 µL de ácido tricloroacético 0.611 M e centrifugada a 2200 × g por 20 minutos. O sobrenadante foi coletado e analisado para a concentração de PAH utilizando método colorimétrico descrito por HUNTINGTON et al., (1982).

A concentração plasmática de glicose e ureia foi determinada através de Kits comerciais (LABTEST, MG, Brasil). A concentração plasmática de amônia foi analisada pelo método cinético NADH desidrogenase utilizando kit comercial (QUIBASA, MG, Brasil).

## Cálculos

O fluxo de sangue (FS) através dos TDVP, fígado e tecidos viscerais (TV) foi calculado de acordo com (KATZ e BERGMAN, 1969) como:

$$FS (L/h) = IRPAH / (VPAH - APAH)$$

onde, IRPAH é a taxa de infusão do PAH (mg/h), VPAH e APAH são a concentração de PAH (mg/L) nos sangues venosos (portal ou hepático) e arterial, respectivamente.

A concentração de O<sub>2</sub> (mL/L) foi calculada (HUNTINGTON e TYRRELL, 1985) como:

$$O_2 (mL/L): [(\% O_2/100) \times 1,34 \times Hgb + (0,023 \times (pO_2/760 \text{ mmHg})) \times 1000]$$

onde, % O<sub>2</sub> é a percentagem de saturação de O<sub>2</sub>, 1,34 é a capacidade máxima de transporte de O<sub>2</sub> pela hemoglobina (mL O<sub>2</sub>/g hemoglobina), Hgb é a concentração de hemoglobina no sangue (g/L), 0,023 é o teor de O<sub>2</sub> dissolvido no sangue (mL/mL sangue) e pO<sub>2</sub> é a pressão de O<sub>2</sub> (mmHg).

A utilização de O<sub>2</sub> pelos TDVP e TV foi calculada multiplicando-se o FS portal ou hepático pela respectiva diferença venosa-arterial da concentração de O<sub>2</sub>. A utilização de O<sub>2</sub> pelo fígado foi calculada como a diferença entre a quantidade utilizada pelo sistema visceral total (TV) menos a quantidade utilizada pelos TDVP.

A produção de calor (H, kcal/dia) pelos TDVP e TV foi calculada assumindo um equivalente de calor de 4,89 kcal/L de O<sub>2</sub> como:

$$H = O_2 \text{ (L/h)} \times 4,89 \times 24$$

### Análise estatística

Para análise estatística foi utilizado a média de todos os horários de amostragem em cada animal-período. Os dados foram analisados pelo PROC MIXED do SAS (SAS, 2002) incluindo-se no modelo o efeito fixo de tratamento e os efeitos aleatórios de animal e período, além do erro experimental. As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste t de Student. Significância foi declarada quando  $P \leq 0,05$ .

## RESULTADOS

### Animais, patência de catéteres e variáveis sanguíneas

Todos os animais completaram o experimento com os cateteres patentes, e nenhum problema aparente de saúde foi observado nos animais durante o estudo. O hematócrito dos animais permaneceu estável durante todo o experimento, mesmo com intenso cronograma de coleta de sangue, em média 19%.

Os fluxos de sangue não foram alterados pelos tratamentos (Tabela 7) e as médias do fluxo de sangue portal e visceral foram similares aos reportados para animais alimentados ao nível de manutenção (80-118 e 117-139 mL/min/kg de PV<sup>0.75</sup>, respectivamente (WEBSTER et al., 1975; BURRIN et al., 1989; ORTIGUES e

DURAND, 1995). A contribuição da artéria hepática ao fluxo sanguíneo hepático foi em média 0.45, 0.24, 0.37 e 0.27, nos tratamentos controle, alanina, arginina e  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ , respectivamente.

Não foram observados efeitos significativos ( $P>0,05$ ) da infusão dos compostos nitrogenados sobre o pH,  $p(\text{CO}_2)$  e concentração de  $\text{HCO}_3^-$  no sangue arterial, indicando que o status ácido-básico dos animais permaneceu inalterado durante o experimento.

Tabela 7 – Concentração de bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ), pH e pressão de  $\text{CO}_2$  ( $p\text{CO}_2$ ) no sangue arterial e fluxo de sangue portal, arterial e hepático em ovinos infundidos com bicarbonato de amônia ( $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ ), alanina e arginina.

Ítem	Tratamentos <sup>1</sup>				EPM <sup>2</sup>	P <sup>3</sup>
	Controle	Alanina	Arginina	$\text{NH}_4\text{HCO}_3$		
<i>Variáveis do sangue arterial</i>						
pH	7.46	7,42	7.43	7,46	0,01	0,28
$p(\text{CO}_2)$ (mmHg)	34,7	36,3	35,5	34,7	0,77	0,29
$\text{HCO}_3^-$ (mmol/L)	24,6	24,7	23,9	25,3	0,75	0,47
<i>Fluxo de sangue, L/h</i>						
Hepático-portal	98,2	103	90,7	92	6,83	0,51
Hepático-arterial	35	25,4	33,7	25	5,50	0,21
Visceral	144	128	127	116	9,36	0,09

<sup>1</sup> Controle= solução fisiológica (0,15 M NaCl);  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ = 0,25 M  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ ; alanina= 0,25 M L-alanina hidrocloreídrica; arginina= 0,125 M L-arginina hidrocloreídrica. <sup>2</sup> Erro padrão da média, n = 4 por tratamento. <sup>3</sup> Probabilidade.

#### Concentração plasmática e fluxo líquido de glicose, N-amônia e N-uréia

A concentração plasmática portal, arterial e hepática de glicose foi mais alta ( $P<0,05$ ) nos tratamentos que incluíram infusão de aminoácidos (Tabela 8).

Tabela 8 – Concentração plasmática arterial, portal e hepática de oxigênio, glicose, N-amônia (NH<sub>3</sub>) e N-uréia em ovinos infundidos com bicarbonato de amônia (NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>), alanina e arginina.

Item	Tratamentos <sup>1</sup>				EPM <sup>2</sup>	P <sup>3</sup>
	Controle	Alanina	Arginina	NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub>		
<i>Concentração arterial, mg/L sangue</i>						
Glicose	446 <sup>b</sup>	502 <sup>a</sup>	481 <sup>a</sup>	436 <sup>b</sup>	14,3	<0,01
Oxigênio	104	110	107	109	12,5	0,74
N-NH <sub>3</sub>	13,2	13,5	12,2	12,0	1,22	0,51
N-uréia	96,5	91,2	101	117	11,1	0,26
<i>Concentração portal, mg/L sangue</i>						
Glicose	433 <sup>b</sup>	495 <sup>a</sup>	473 <sup>a</sup>	432 <sup>b</sup>	14,0	0,01
Oxigênio	86,5	94,7	90,0	90,5	12,5	0,52
N-NH <sub>3</sub>	15,7	16,0	14,7	16,5	1,57	0,72
N-uréia	95,2	88,5	97,5	111	9,67	0,20
<i>Concentração hepática, mg/L sangue</i>						
Glicose	459 <sup>c</sup>	527 <sup>a</sup>	496 <sup>b</sup>	453 <sup>c</sup>	14,03	<0,01
Oxigênio	76,2	86,2	81,7	80,2	13,3	0,43
N-NH <sub>3</sub>	13,7	13,5	12,0	12,0	1,18	0,31
N-uréia	100	94,7	111	125	11,2	0,22

<sup>1</sup> Controle= solução fisiológica (0,15 M NaCl); NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>= 0,25 M NH<sub>4</sub>HCO; alanina= 0,25 M L-alanina hidrocloreídrica; arginina= 0,125 M L-arginina hidrocloreídrica. <sup>2</sup> Erro padrão da média, n = 4 por tratamento. <sup>3</sup> Probabilidade. Médias seguidas de letras diferentes na linha diferem entre si pelo teste t de Student (5%).

As concentrações plasmáticas de oxigênio, N-NH<sub>3</sub> e N-uréia foram similares em todos os tratamentos.

Os fluxos portal líquido de glicose e N-uréia foram negativos, enquanto que o fluxo visceral e produção hepática destes metabólitos foram positivos, mas não foram afetados significativamente pelos tratamentos (Tabela 9).

Tabela 9 – Fluxo líquido de glicose, N-amônia (N-NH<sub>3</sub>) e N-uréia através dos tecidos drenados pela veia porta (TDVP), fígado e tecidos viscerais totais (TV) em ovinos infundidos com bicarbonato de amônia (NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>), alanina e arginina.

Item	Tratamentos <sup>1</sup>				EPM <sup>2</sup>	P <sup>3</sup>
	Controle	Alanina	Arginina	NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub>		
<i>Tecidos drenados pela veia porta, mg/h</i>						
Glicose	-960	-637	-562	-346	211	0,31
N-uréia	-317	-218	-274	-401	154	0,31
N-NH <sub>3</sub>	194 <sup>b</sup>	214 <sup>b</sup>	192 <sup>b</sup>	349 <sup>a</sup>	48,3	0,04
<i>Fígado, mg/h</i>						
Glicose	2431	3165	2050	1867	472	0,16
N-uréia	741	606	1190	1117	255	0,37
N-NH <sub>3</sub>	-168 <sup>b</sup>	-208 <sup>b</sup>	-187 <sup>b</sup>	-330 <sup>a</sup>	47,7	0,02
<i>Tecidos viscerais totais, mg/h</i>						
Glicose	1470 <sup>b</sup>	2528 <sup>a</sup>	1488 <sup>b</sup>	1520 <sup>b</sup>	388	0,04
N-uréia	424	388	916	715	238	0,35
N-NH <sub>3</sub>	25,2	5,75	4,25	19,2	19,6	0,84

<sup>1</sup> Controle= solução fisiológica (0,15 M NaCl); NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>= 0,25 M NH<sub>4</sub>HCO; alanina= 0,25 M L-alanina hidrocloreídrica; arginina= 0,125 M L-arginina hidrocloreídrica. <sup>2</sup> Erro padrão da média, n = 4 por tratamento. <sup>3</sup> Probabilidade. Médias seguidas de letras diferentes na linha diferem entre si pelo teste t de Student (5%).



Ambos, o fluxo portal líquido e a remoção hepática de N-amônia foram mais altos ( $P < 0,05$ ) no tratamento que incluiu infusão mesentérica de  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ . O fluxo visceral líquido de N-amônia não foi afetado pelos tratamentos e foi próximo a zero.

O fluxo de  $\text{O}_2$  e produção de calor nos TDVP não diferiu estatisticamente entre tratamentos ( $P > 0,05$ ) (Tabela 10). Contudo, houve maior ( $P < 0,05$ ) gasto de  $\text{O}_2$  e produção de calor pelo fígado no tratamento controle, tendendo ( $P = 0,06$ ) a impactar também estas variáveis pelo sistema visceral neste tratamento.

Tabela 10 – Fluxo líquido de oxigênio e produção de calor pelos tecidos drenados pela veia porta (TDVP), fígado e tecidos viscerais totais (TV) em ovinos infundidos com bicarbonato de amônia ( $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ ), alanina e arginina.

Ítem	Tratamentos <sup>1</sup>				EPM <sup>2</sup>	P <sup>3</sup>
	Controle	Alanina	Arginina	$\text{NH}_4\text{HCO}_3$		
Fluxo líquido de oxigênio, mL/h						
TDVP	-1726	-1526	-1550	-1708	137	0,65
Fígado	-2292 <sup>a</sup>	-1458 <sup>b</sup>	-1568 <sup>b</sup>	-1626 <sup>b</sup>	169	0,04
TV	-4018	-2984	-3118	-3314	229	0,06
Produção de calor, kcal/h						
TDVP	8,42	7,47	7,60	8,35	0,67	0,66
Fígado	11,2 <sup>a</sup>	7,15 <sup>b</sup>	7,65 <sup>b</sup>	7,92 <sup>b</sup>	0,82	0,04
TV	19,6	14,6	15,2	16,3	1,11	0,06

<sup>1</sup> Controle= solução fisiológica (0,15 M NaCl);  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ = 0,25 M  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ ; alanina= 0,25 M L-alanina hidrocloreídrica; arginina= 0,125 M L-arginina hidrocloreídrica. <sup>2</sup> Erro padrão da média, n = 4 por tratamento. <sup>3</sup> Probabilidade. Médias seguidas de letras diferentes na linha diferem entre si pelo teste t de Student (5%).

## DISCUSSÃO

O presente estudo foi delineado para avaliar se um aumento no aporte portal de bicarbonato de amônia, alanina e arginina, poderia aumentar o gasto de O<sub>2</sub> pelo sistema visceral em ovinos, principalmente associado à síntese de glicose e ureia. Dados de estudos *in vivo* (REYNOLDS et al., 1991b; LOBLEY et al., 1995; WRAY-CAHEN et al., 1997; MILANO et al., 2000), demonstram que o gasto de O<sub>2</sub> é alterado em condições de alta disponibilização de NH<sub>3</sub> e aminoácidos ao fígado. Contudo, a interpretação desses resultados é confundida por outras variáveis alteradas pelos tratamentos, como consumo e oferta de nutrientes. Desse modo, no presente estudo, somente a oferta de N ao fígado, sob a forma de diferentes compostos nitrogenados, foi alterada.

Embora os TDVP e o fígado contribuíssem cada um, com aproximadamente 50% do gasto total de energia pelo sistema visceral, o que está de acordo com outros estudos (WEBSTER et al., 1975; BURRIN et al., 1989; HUNTINGTON, 1990a; ORTIGUES, 1991), nem os aminoácidos e nem o NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>, infundidos na veia mesentérica, resultaram em aumento do fluxo de sangue e do gasto de oxigênio pelo fígado e sistema visceral. Isto é surpreendente considerando-se a alta carga adicional de compostos nitrogenados, entretanto, a alta variabilidade dos resultados, principalmente associada à análise da concentração dos metabólitos sanguíneos, pode ter comprometido a identificação clara dos efeitos esperados.

Cinco importantes processos bioquímicos no fígado, incluindo atividade de Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase, síntese protéica, ciclagem de substratos e síntese de uréia, respondem pela maior parte da produção de calor hepática, enquanto que outros processos como gliconeogênese, turnover de lipídios e transporte de Ca<sup>2+</sup>, participam com aproximadamente 17% do consumo total de O<sub>2</sub> pelo animal (McBRIDE e KELLY, 1990).

O fluxo líquido de glicose pelos TDVP foi negativo em todos os tratamentos, indicando que a glicose ofertada pela dieta não atendeu a demanda para o metabolismo destes tecidos, e desse modo, houve captação de glicose da circulação arterial (REYNOLDS et al., 1991a; LAPIERRE et al., 2000). A segunda hipótese deste trabalho, que a infusão de alanina geraria maior gasto de O<sub>2</sub> pelo fígado e sistema visceral, em função do incremento no uso de ATP e equivalentes de ATP

nas atividades metabólicas de síntese de glicose e uréia não foi confirmada. Embora a produção hepática e o fluxo visceral de glicose tenham sido numericamente maiores com a infusão de alanina, em relação ao tratamento controle, a produção de uréia foi a menor entre todos os tratamentos testados. Uma possível explicação para a baixa produção de uréia nesse tratamento pode estar relacionada à incorporação dos grupamentos amino oriundos do catabolismo oxidativo da alanina, em glutamato.

Com a infusão de arginina, também era esperado que houvesse aumento na produção de glicose pelo fígado, o que não aconteceu. Contudo, a produção hepática de ureia, apesar de não ser estatisticamente diferente, foi mais alta neste tratamento. Isso indica que a maior parte da arginina infundida ingressou diretamente no Ciclo da Ureia, ao invés de ser utilizada para síntese *de novo* de glicose. A arginina tem seu ponto de entrada no ciclo de Krebs em  $\alpha$ -cetogluturato, e o balanço final de produção de glicose a partir desse AA é positivo em 8 ATP/mol. Já a alanina entra via piruvato e apresenta um balanço negativo de 12 ATP/mol de glicose produzida (KOZLOSKI, 2009). A produção de ureia representa um custo energético de 1 a 4 ATP/mol uréia, dependendo se a energia produzida pela contribuição do fumarato no ciclo de Krebs é levada em consideração ou não (NELSON e COX, 2004). Por conseguinte, eram esperadas diferenças significativas em gasto de  $O_2$  e produção de calor hepático com a infusão desses AA, relacionado não somente a síntese de glicose, como também de ureia, o que não ocorreu.

O fluxo portal de ureia foi negativo, e a produção hepática de ureia maior com a infusão de  $NH_4HCO_3$ , quando comparada ao tratamento controle, o que está de acordo com outros estudos (LOBLEY et al., 1996; MILANO et al., 2000). A menor produção de glicose observada com a administração de  $NH_4HCO_3$  pode ser explicada pela utilização indireta dos intermediários do Ciclo de Krebs (i.e. oxaloacetato e  $\alpha$ -cetogluturato) no Ciclo da Ureia, em reações de transaminação para a produção de aspartato e glutamato, ao invés de sua participação na gliconeogênese. O fluxo portal de N-amônia foi positivo e também mais alto com a infusão de  $NH_4HCO_3$ , o que era esperado, assim como a captação pelo fígado de praticamente toda a amônia presente na circulação portal (PARKER et al., 1995). Resultados de experimentos de fluxo de compostos nitrogenados pelo sistema visceral (REYNOLDS, 1992; PARKER et al., 1995; LESCOAT et al., 1996) indicam que a extração de amônia pelo fígado está associada a uma produção de ureia

maior que a equimolar, o que de fato aconteceu no presente estudo. Por um lado, isto sugere que a síntese de ureia a partir de fontes de N não-amoniacal foi estimulada durante a carga portal adicional de compostos nitrogenados. Por outro lado, a síntese de ureia foi superior ao consumo de N em todos os tratamentos, indicando que parte da uréia foi produzida a partir de amônia oriunda da reciclagem de uréia para o TGI (GOETSCH e FERRELL, 1995; SARRASECA et al., 1998).

Diferente do esperado, o fluxo de sangue e o gasto hepático de energia foram maiores no tratamento controle. Apesar da explicação para isto não ser aparente, pode estar associada a algum fator não controlado no experimento e/ou ao protocolo experimental adotado. Nesse caso, o fluxo de sangue pode ter variado de um dia para outro, em função de outros fatores, que não o efeito dos tratamentos experimentais.

## CONCLUSÃO

O gasto hepático de oxigênio não teve relação clara com a ureagênese ou gliconeogênese e, diferente do esperado, reduziu com o aumento da carga hepática de compostos nitrogenados. Contudo, o protocolo experimental utilizado e a alta variabilidade nos dados, principalmente relacionado à medida da concentração dos metabólitos, não permitem concluir definitivamente sobre as hipóteses testadas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BURRIN, D. G.; FERRELL, C. L.; EISEMANN, J. H. et al. Effect of level of nutrition on splanchnic blood flow and oxygen consumption in sheep. **British Journal of Nutrition**, v. 62, p. 23-34, 1989.

GOETSCH, A. L.; FERRELL, C. L. Effects of dietary maize level on net flux across splanchnic tissues of oxygen and nutrients in wethers consuming ad libitum different forages. **Animal Science**, v. 61, p. 43-55, 1995.

HUNTINGTON, G. Energy metabolism in the digestive tract and liver of cattle: Influence of physiological state and nutrition. **Reproduction Nutrition Development**, v. 30, p. 35-47, 1990.

KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos ruminantes**. 2 ed. Santa Maria: Editora da Universidade Federal de Santa Maria, 2009. 214 p.

LAPIERRE, H.; BERNIER, J. F.; DUBREUIL, P. et al. The effect of feed intake level on splanchnic metabolism in growing beef steers. **Journal of Animal Science**, v. 78, p. 1084-1099, 2000.

LESCOAT, P.; SAUVANT, D.; DANFAER, A. Quantitative aspects of blood and amino acid flows in cattle. **Reproduction Nutrition Development**, v. 36, p. 137-174, 1996.

LOBLEY, G. E.; CONNELL, A.; LOMAX, M. A. et al. Hepatic detoxification of ammonia in the ovine liver: Possible consequences for amino acid catabolism. **British Journal of Nutrition**, v. 73, p. 667-685, 1995.

LOBLEY, G. E.; WEIJS, P. J.; CONNELL, A. et al. The fate of absorbed and exogenous ammonia as influenced by forage or forage-concentrate diets in growing sheep. **British Journal of Nutrition**, v. 76, p. 231-248, 1996.

MILANO, G. D.; HOTSTON-MOORE, A.; LOBLEY, G. E. Influence of hepatic ammonia removal on ureagenesis, amino acid utilization and energy metabolism in the ovine liver. **British Journal of Nutrition**, v. 83, p. 307-315, 2000.

NELSON, D. L.; COX, M. M. 2004. **Lehninger principles of biochemistry**, 4th ed. W. H. Freeman, New York City, NY.

ORTIGUES, I. Adaptation du métabolisme énergétique des ruminants à la sous-alimentation. Quantification au niveau de l'animal entier et de tissus corporels. **Reproduction Nutrition Development**, v. 31, p. 593-616, 1991.

PARKER, D. S.; LOMAX, M. A.; SEAL, C. J. et al. Metabolic implications of ammonia production in the ruminant. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 54, p. 549-563, 1995.

REYNOLDS, C. K. Metabolism of nitrogenous compounds by ruminant liver. **The Journal of Nutrition**, v. 122, p. 850-854, 1992.

REYNOLDS, C. K.; TYRRELL, H. F.; REYNOLDS, P. J. Effects of diet forage-to-concentrate ratio and intake on energy metabolism in growing beef heifers: Net nutrient metabolism by visceral tissues. **Journal of Nutrition**, v. 121, p. 1004-1015 1991a.

\_\_\_\_\_. Effects of diet forage-to-concentrate ratio and intake on energy metabolism in growing beef heifers: Whole body energy and nitrogen balance and visceral heat production. **Journal of Nutrition**, v. 121, p. 994-1003, 1991b.

SARRASECA, A.; MILNE, E.; METCALF, M. J. et al. Urea recycling in sheep: Effects of intake. **British Journal of Nutrition**, v. 79, p. 79-88, 1998.

WEBSTER, A. J.; OSUJI, P. O.; WHITE, F. et al. The influence of food intake on portal blood flow and heat production in the digestive tract of sheep. **British Journal of Nutrition**, v. 34, p. 125-139, 1975.

WRAY-CAHEN, D.; METCALF, J. A.; BACKWELL, F. R. et al. Hepatic response to increased exogenous supply of plasma amino acids by infusion into the mesenteric vein of holstein-friesian cows in late gestation. **British Journal of Nutrition**, v. 78, p. 913-930, 1997.

## 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este é um trabalho de pesquisa básica que busca o entendimento sobre o efeito de alguns fatores sobre o metabolismo energético no sistema visceral.

No primeiro experimento é abordado o efeito do nível de consumo sobre o gasto de energia pelo sistema visceral. Definitivamente este é um aspecto que não está conclusivamente estabelecido na literatura. A utilização de energia pelos tecidos de importância econômica (músculo, glândula mamária), depende parcialmente da partição na oferta de EM entre todos os tecidos corporais, e o nível de consumo de alimento pode modificar esta partição. Mudanças na dieta são associadas com alterações no gasto de energia dos tecidos viscerais (HUNTINGTON, 1990b; JOHNSON et al., 1990; ORTIGUES, 1991), sendo que sua participação na exigência total de energia pelo animal aumenta com a redução do consumo. O efeito do nível de consumo tem sido estudado em sua maioria com animais alimentados acima do nível de manutenção. Foi de particular interesse avaliar este efeito também em um nível abaixo e ao nível de manutenção no primeiro experimento.

Poucos trabalhos tem sido focados na quantidade ou causas de variação individual na eficiência de utilização de energia pelos tecidos viscerais, e também pelo animal como um todo, mesmo sabendo que diferenças entre indivíduos são reconhecidas. Por exemplo, os valores das exigências de manutenção proposto pelos sistemas nutricionais (NRC, AFRC, CNCPS...), que afetam grandemente o gasto de energia e a eficiência energética do animal, e que englobam de maneira significativa atividades metabólicas do sistema visceral, não foram substancialmente alterados nos últimos 100 anos.

A necessidade de mais estudos avaliando o efeito específico do nível de consumo sobre a utilização geral de energia pelos tecidos viscerais, com vistas a desenvolver modelos de predição mais mecanísticos, certamente ainda existe. Contudo, existe também a necessidade de melhor quantificação de componentes individuais do gasto de energia pelo sistema visceral. Dois destes componentes, a ureagênese e a gliconeogênese e sua variação com a infusão de diferentes compostos nitrogenados é o foco de estudo no segundo experimento desta Tese.



Contudo, não foram obtidas informações conclusivas sobre estas variáveis e aspectos metodológicos devem ser considerados na condução de novos ensaios sobre o tema.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADEOLA, O.; YOUNG, L. G.; MCBRIDE, B. W. et al. In vitro na<sup>+</sup>, k<sup>+</sup>-atpase (ec 3.6.1.3)-dependent respiration and protein synthesis in skeletal muscle of pigs fed at three dietary protein levels. **British Journal of Nutrition**, v. 61, p. 453, 1989.

ANAND, U.; ANAND, C. V. The energy cost of urea synthesis **Biochemical Education**, v. 21, p. 198-199, 1993.

AOYAGI, Y.; TASAKI, I.; OKUMURA, J. et al. Energy cost of whole-body protein synthesis measured in vivo in chicks. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Comparative Physiology**, v. 91, p. 765-768, 1988.

ATTAIX, D.; AUROUSSEAU, E.; MANGHEBATI, A. et al. Contribution of liver, skin and skeletal muscle to whole-body protein synthesis in the young lamb. **British Journal of Nutrition**, v. 60, p. 77-84, 1988.

ATTAIX, D.; RÉMOND, D. Protein metabolism and turnover. In: FORBES, J. M. and FRANCE, J. (eds.) **Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism**. CAB International, Wallingford 2005, p. 373-398.

BALDWIN, R. L.; SMITH, N. E.; TAYLOR, J. et al. Manipulating metabolic parameters to improve growth rate and milk secretion. **Journal of Animal Science**, v. 51, p. 1416-1428, 1980.

BERMINGHAM, E. N.; NOZIÈRE, P.; VERNET, J. et al. The relationships between intake and net portal fluxes of energy metabolites in ruminants: A meta-analysis. **Animal Feed Science and Technology**, v. 143, p. 27-58, 2008.

BURRIN, D. G.; FERRELL, C. L.; BRITTON, R. A. et al. Level of nutrition and visceral organ size and metabolic activity in sheep. **British Journal of Nutrition**, v. 64, p. 439-448, 1990.

BURRIN, D. G.; FERRELL, C. L.; EISEMANN, J. H. et al. Effect of level of nutrition on splanchnic blood flow and oxygen consumption in sheep. **British Journal of Nutrition**, v. 62, p. 23-34, 1989.

CANT, J. P.; MCBRIDE, B. W.; CROOM, W. J., JR. The regulation of intestinal metabolism and its impact on whole animal energetics. **Journal of Animal Science**, v. 74, p. 2541-2553, 1996.

CIECHANOVER, A. Regulation of the ubiquitin-mediated proteolytic pathway: Role of the substrate  $\alpha$ -nh<sub>2</sub> group and of transfer rna. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 34, p. 81-100, 1987.

CONNELL, A.; CALDER, A. G.; ANDERSON, S. E. et al. Hepatic protein synthesis in the sheep: Effect of intake as monitored by use of stable-isotope-labelled glycine, leucine and phenylalanine. **British Journal of Nutrition**, v. 77, p. 255-271, 1997.

DANFAER, A.; TETENS, V.; AGERGAARD, N. Review and an experimental study on the physiological and quantitative aspects of gluconeogenesis in lactating ruminants. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v. 111, p. 201-210, 1995.

DAVIS, S. R.; BARRY, T. N.; HUGHSON, G. A. Protein synthesis in tissues of growing lambs. **British Journal of Nutrition**, v. 46, p. 409-419, 1981.

DI MARCO, O. N.; MASSA, A. E.; AELLO, M. S. et al. Energy efficiency in grazing lambs differing in sire body size, determined by the in vitro respiration rate and weight of liver and rumen. **Archivos Latinoamericanos de Producción Animal**, v. 9, p. 12-16, 2001.

EARLY, R. J.; MCBRIDE, B. W.; BALL, R. O. Growth and metabolism in somatotropin-treated steers: lii. Protein synthesis and tissue energy expenditures. **Journal of Animal Science**, v. 68, p. 4153-4166, 1990.

EISEMANN, J. H.; NIENABER, J. A. Tissue and whole-body oxygen uptake in fed and fasted steers. **British Journal of Nutrition**, v. 64, p. 399-411, 1990.

EL-KADI, S. W.; BALDWIN, R. L.; MCLEOD, K. R. et al. Glutamate is the major anaplerotic substrate in the tricarboxylic acid cycle of isolated rumen epithelial and duodenal mucosal cells from beef cattle. **The Journal of Nutrition**, v. 139, p. 869-875, 2009.

FERRELL, C. L.; NIENABER, J. A.; KOONG, L. J. Effects of previous nutrition on maintenance requirements and efficiency of feed utilization of growing lambs. **Journal of Animal Science**, v. 57 (Suppl. 1), p. 431 1983.

FOX, D. G.; TEDESCHI, L. O.; TYLUTKI, T. P. et al. The cornell net carbohydrate and protein system model for evaluating herd nutrition and nutrient excretion. **Animal Feed Science and Technology**, v. 112, p. 29-78, 2004.

GEBHARDT, R. Metabolic zonation of the liver: Regulation and implications for liver function. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 53, p. 275-354, 1992.

GILL, M.; FRANCE, J.; SUMMERS, M. et al. Simulation of the energy costs associated with protein turnover and  $Na^+$ ,  $K^+$ -transport in growing lambs. **Journal of Nutrition**, v. 119, p. 1287-1299, 1989.

GOETSCH, A. L. Splanchnic tissue energy use in ruminants that consume forage-based diets ad libitum. **Journal of Animal Science**, v. 76, p. 2737-2746, 1998.

GOETSCH, A. L.; FERRELL, C. L. Effects of dietary maize level on net flux across splanchnic tissues of oxygen and nutrients in wethers consuming ad libitum different forages. **Animal Science**, v. 61, p. 43-55, 1995.

GOETSCH, A. L.; PATIL, A. R.; GALLOWAY, D. L. et al. Net flux of nutrients across splanchnic tissues in wethers consuming grasses of different sources and physical forms ad libitum. **British Journal of Nutrition**, v. 77, p. 769-781, 1997.

GRAHAM, N.; SEARLE, T.; GRIFFITHS, D. Basal metabolic rate in lambs and young sheep. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 25, p. 957-971, 1974.

GREGG, V. A.; MILLIGAN, L. P. In vitro energy costs of  $Na^+$ ,  $K^+$  atpase activity and protein synthesis in muscle from calves differing in age and breed. **British Journal of Nutrition**, v. 48, p. 65-71, 1982.

HAN, X. T.; NOZIERE, P.; REMOND, D. et al. Effects of nutrient supply and dietary bulk on  $O_2$  uptake and nutrient net fluxes across rumen, mesenteric- and portal-drained viscera in ewes. **Journal of Animal Science**, v. 80, p. 1362-1374, 2002.

HARMON, D. L.; MCLEOD, K. R. Glucose uptake and regulation by intestinal tissues: Implications and whole-body energetics. **Journal of Animal Science**, v. 79, p. E59-E72, 2001.

HERSHKO, A. Ubiquitin-mediated protein degradation. **Journal of Biological Chemistry**, v. 263, p. 15237-15240, 1988.

HERSHKO, A.; CIECHANOVER, A. Mechanisms of intracellular protein breakdown. **Annual Review of Biochemistry**, v. 51, p. 335-364, 1982.

HUNTINGTON, G. B. Energy metabolism in the digestive tract and liver of cattle: Influence of physiological state and nutrition. **Reproduction Nutrition Development**, v. 30, p. 35-47, 1990a.

\_\_\_\_\_. Energy metabolism in the digestive tract and liver of cattle: Influence of physiological state and nutrition. **Reproduction Nutrition Development**, v. 30, p. 35-47, 1990b.

HUNTINGTON, G. B.; EISEMANN, J. H.; WHITT, J. M. Portal blood flow in beef steers: Comparison of techniques and relation to hepatic blood flow, cardiac output and oxygen uptake. **Journal of Animal Science**, v. 68, p. 1666-1673, 1990a.

\_\_\_\_\_. Portal blood flow in beef steers: Comparison of techniques and relation to hepatic blood flow, cardiac output and oxygen uptake. **Journal of Animal Science**, v. 68, p. 1666-1673, 1990b.

HUNTINGTON, G. B.; HARMON, D. L.; RICHARDS, C. J. Sites, rates, and limits of starch digestion and glucose metabolism in growing cattle. **Journal of Animal Science**, v. 84 Suppl, p. E14-24, 2006.

HUNTINGTON, G. B.; REYNOLDS, C. K. Oxygen consumption and metabolite flux of bovine portal-drained viscera and liver. **The Journal of Nutrition**, v. 117, p. 1167-1173, 1987.

HUNTINGTON, G. B.; REYNOLDS, C. K.; STROUD, B. H. Techniques for measuring blood flow in splanchnic tissues of cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 72, p. 1583-1595, 1989.

HUNTINGTON, G. B.; TYRRELL, H. F. Oxygen consumption by portal-drained viscera of cattle: Comparison of analytical methods and relationship to whole body oxygen consumption. **Journal of dairy science**, v. 68, p. 2727-2731, 1985.

HUNTINGTON, G. B.; VARGA, G. A.; GLENN, B. P. et al. Net absorption and oxygen consumption by holstein steers fed alfalfa or orchardgrass silage at two equalized intakes. **Journal of Animal Science**, v. 66, p. 1292-1302, 1988.

JOHNSON, D. E.; FERRELL, C. L.; JENKINS, T. G. The history of energetic efficiency research: Where have we been and where are we going? **Journal of Animal Science**, v. 81, p. E27-E38, 2003.

JOHNSON, D. E.; JOHNSON, K. A.; BALDWIN, R. L. Changes in liver and gastrointestinal tract energy demands in response to physiological workload in ruminants. **Journal of Nutrition**, v. 120, p. 649-655, 1990.

JUNGERMANN, K.; KIETZMANN, T. Zonation of parenchymal and nonparenchymal metabolism in liver. **Annual Review of Nutrition**, v. 16, p. 179-203, 1996.

KAMALZADEH, A.; KOOPS, W. J.; KIASAT, A. Effect of qualitative feed restriction on energy metabolism and nitrogen retention in sheep **South African Journal of Animal Science**, v. 39, p. 30-39, 2009.

KATZ, M. L.; BERGMAN, E. N. A method for simultaneous cannulation of the major splanchnic blood vessels of the sheep. **American Journal of Veterinary Research**, v. 30, p. 655-661, 1969.

KELLEY, D. S.; NELSON, G. J.; HUNT, J. E. Effect of prior nutritional status on the activity of lipogenic enzymes in primary monolayer cultures of rat hepatocytes. **Biochemical Journal**, v. 235, p. 87-90, 1986.

KELLY, J. M.; MCBRIDE, B. W.; MILLIGAN, L. P. In vitro ouabain-sensitive respiration and protein synthesis in ruminal epithelial papillae of hereford steers fed either alfalfa or bromegrass hay once daily. **Journal of Animal Science**, v. 71, p. 2799-2808, 1993a.

KELLY, J. M.; SOUTHORN, B. G.; KELLY, C. E. et al. Quantification of in vitro and in vivo energy metabolism of the gastrointestinal tract of fed or fasted sheep. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 73, p. 855-868, 1993b.

KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos ruminantes**. 2 ed. Santa Maria: Editora da Universidade Federal de Santa Maria, 2009. 214 p.

\_\_\_\_\_. **Bioquímica dos ruminantes**. 3 ed. Santa Maria: Editora da Universidade Federal de Santa Maria, 2011. 212 p.

KOZLOSKI, G. V.; PEROTTONI, J.; CIOCCA, M. L. S. et al. Potential nutritional assessment of dwarf elephant grass (*pennisetum purpureum schum. Cv. Mott*) by chemical composition, digestion and net portal flux of oxygen in cattle. **Animal Feed Science and Technology**, v. 104, p. 29-40, 2003.

KRAFT, G. **Régulation nutritionnelle du métabolisme hépatique des acides aminés chez le ruminant en croissance** 2009. 355 f. Thesis (PhD Sciences de la vie et santé ) - l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (Agro Paris Tech) Paris.

KUO, F. C.; HWU, W. L.; VALLE, D. et al. Colocalization in pericentral hepatocytes in adult mice and similarity in developmental expression pattern of ornithine aminotransferase and glutamine synthetase mRNA. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 88, p. 9468-9472, 1991.

LAPIERRE, H.; BERNIER, J. F.; DUBREUIL, P. et al. The effect of feed intake level on splanchnic metabolism in growing beef steers. **Journal of Animal Science**, v. 78, p. 1084-1099, 2000.

LARSEN, M.; KRISTENSEN, N. B. Effect of abomasal glucose infusion on splanchnic and whole-body glucose metabolism in periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 1071-1083, 2009.

LAUTT, W. W. The 1995 Ciba-Geigy award lecture. Intrinsic regulation of hepatic blood flow. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 74, p. 223-233, 1996.

LESCOAT, P.; SAUVANT, D.; DANFAER, A. Quantitative aspects of blood and amino acid flows in cattle. **Reproduction Nutrition Development**, v. 36, p. 137-174, 1996.

LINDSAY, D. B.; REYNOLDS, C. K. Metabolism of the portal-drained viscera and liver. In: FORBES, J. M. and FRANCE, J. (eds.) **Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism**. CAB International, Wallingford, 2005, p. 311-343.

LOBLEY, G. E.; BREMNER, D. M.; NIETO, R. et al. Transfers of nitrogen metabolites across the ovine liver in response to short-term infusions of an amino acid mixture into the mesenteric vein. **British Journal of Nutrition**, v. 80, p. 371-379, 1998.

LOBLEY, G. E.; CONNELL, A.; LOMAX, M. A. et al. Hepatic detoxification of ammonia in the ovine liver: Possible consequences for amino acid catabolism. **British Journal of Nutrition**, v. 73, p. 667-685, 1995.

LOBLEY, G. E.; CONNELL, A.; MILNE, E. et al. Protein synthesis in splanchnic tissues of sheep offered two levels of intake. **British Journal of Nutrition**, v. 71, p. 3-12, 1994.

LOBLEY, G. E.; MILANO, G. D.; VAN DER WALT, J. G. The liver: Integrator of nitrogen metabolism. In: CRONJÉ, P. B. et al. (eds.) **Ruminant physiology: Digestion, metabolism, growth and reproduction**. CAB International, Wallingford, UK, 2000, p. 149-168.

LOBLEY, G. E.; MILNE, V.; LOVIE, J. M. et al. Whole body and tissue protein synthesis in cattle. **British Journal of Nutrition**, v. 43, p. 491-502, 1980.

LOBLEY, G. E.; WEIJS, P. J.; CONNELL, A. et al. The fate of absorbed and exogenous ammonia as influenced by forage or forage-concentrate diets in growing sheep. **British Journal of Nutrition**, v. 76, p. 231-248, 1996.

LOMAX, M. A.; BAIRD, G. D. Blood flow and nutrient exchange across the liver and gut of the dairy cow. Effects of lactation and fasting. **British Journal of Nutrition**, v. 49, p. 481-496, 1983.

MALTBY, S. A.; REYNOLDS, C. K.; LOMAX, M. A. et al. Splanchnic metabolism of nitrogenous compounds and urinary nitrogen excretion in steers fed alfalfa under conditions of increased absorption of ammonia and L-arginine supply across the portal-drained viscera. **Journal of Animal Science**, v. 83, p. 1075-1087, 2005.

MARSTON, H. R. Energy transactions in the sheep i. The basal heat production and heat increment. **Australian Journal of Biological Sciences**, v. 1, p. 93-129, 1948.

MAYER, R. J.; DOHERTY, F. Intracellular protein catabolism: State of the art. **FEBS Letters**, v. 198, p. 181-193, 1986.

MCBRIDE, B. W.; KELLY, J. M. Energy cost of absorption and metabolism in the ruminant gastrointestinal tract and liver: A review. **Journal of Animal Science**, v. 68, p. 2997-3010, 1990.

MCBRIDE, B. W.; MILLIGAN, L. P. The effect of lactation on ouabain-sensitive respiration of the duodenal mucosa of cows. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 64, p. 817-824, 1984.

MCBRIDE, B. W.; MILLIGAN, L. P. Influence of feed intake and starvation on the magnitude of Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase-dependent respiration in duodenal mucosa of sheep. **British Journal of Nutrition**, v. 53, p. 605-614, 1985a.



\_\_\_\_\_. Magnitude of ouabain-sensitive respiration in the liver of growing, lactating and starved sheep. **British Journal of Nutrition**, v. 54, p. 293-303, 1985b.

MCLEOD, K. R.; BALDWIN, R. L. T. Effects of diet forage:Concentrate ratio and metabolizable energy intake on visceral organ growth and in vitro oxidative capacity of gut tissues in sheep. **Journal of Animal Science**, v. 78, p. 760-770, 2000.

MEIJER, A. J.; LAMERS, W. H.; CHAMULEAU, R. A. Nitrogen metabolism and ornithine cycle function. **Physiological Reviews**, v. 70, p. 701-748, 1990.

MILANO, G. D.; HOTSTON-MOORE, A.; LOBLEY, G. E. Influence of hepatic ammonia removal on ureagenesis, amino acid utilization and energy metabolism in the ovine liver. **British Journal of Nutrition**, v. 83, p. 307-315, 2000.

MILLIGAN, L. P.; MCBRIDE, B. W. Energy costs of ion pumping by animal tissues. **Journal of Nutrition**, v. 115, p. 1374-1382, 1985.

MILLIGAN, L. P.; SUMMERS, M. The biological basis of maintenance and its relevance to assessing responses to nutrients. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 45, p. 185-193, 1986.

MILLWARD, D. J.; GARLICK, P. J.; REEDS, P. J. The energy cost of growth. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 35, p. 339-349, 1976.

NELSON, D. L.; COX, M. M. 2004. **Lehninger principles of biochemistry**, 4th ed. W. H. Freeman, New York City, NY.

NEUTZE, S. A.; GOODEN, J. M.; ODDY, V. H. Measurement of protein turnover in the small intestine of lambs. 2. Effects of feed intake. **The Journal of Agricultural Science**, v. 128, p. 233-246, 1997.

NEWSHOLME, E. A.; STANLEY, J. C. Substrate cycles: Their role in control of metabolism with specific references to the liver. **Diabetes/Metabolism Reviews**, v. 3, p. 295-305, 1987.

NIETO, R.; CALDER, A. G.; ANDERSON, S. E. et al. Method for the determination of  $^{15}\text{N}_3$  enrichment in biological samples by gas chromatography/electron impact ionization mass spectrometry. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 31, p. 289-294, 1996.

NOZIERE, P.; ATTAIX, D.; BOCQUIER, F. et al. Effects of underfeeding and refeeding on weight and cellularity of splanchnic organs in ewes. **Journal of Animal Science**, v. 77, p. 2279-2290, 1999.

NRC. 1981. **Nutritional energetics of domestic animals and glossary of energy terms**, 8th ed. National Academy Press, Washington, DC.

ORTIGUES-MARTY, I.; VERNET, J.; MAJDOUB, L. Whole body glucose turnover in growing and non-productive adult ruminants: Meta-analysis and review. **Reproduction Nutrition Development**, v. 43, p. 371-383, 2003.

ORTIGUES, I. Adaptation du métabolisme énergétique des ruminants à la sous-alimentation. Quantification au niveau de l'animal entier et de tissus corporels. **Reproduction Nutrition Development**, v. 31, p. 593-616, 1991.

ORTIGUES, I.; DURAND, D. Adaptation of energy metabolism to undernutrition in ewes. Contribution of portal-drained viscera, liver and hindquarters. **British Journal of Nutrition**, v. 73, p. 209-226, 1994.

ORTIGUES, I.; DURAND, D.; LEFAIVRE, J. Use of para-amino hippuric acid to measure blood flows through portal-drained-viscera, liver and hindquarters in sheep. **The Journal of Agricultural Science**, v. 122, p. 299-308, 1994.

PARKER, D. S.; LOMAX, M. A.; SEAL, C. J. et al. Metabolic implications of ammonia production in the ruminant. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 54, p. 549-563, 1995.

PRIOR, R. L.; HUNTINGTON, G. B.; BRITTON, R. A. Influence of diet on amino acid absorption in beef cattle and sheep. **Journal of Nutrition**, v. 111, p. 2212-2222, 1981.

RABKIN, M.; BLUM, J. J. Quantitative analysis of intermediary metabolism in hepatocytes incubated in the presence and absence of glucagon with a substrate mixture containing glucose, ribose, fructose, alanine and acetate. **Biochemical Journal**, v. 225, p. 761-786, 1985.

REID, R. L. Milestones in forage research (1969 - 1994). In: FAHEY JR., G. C. (eds.) **Forage quality, evaluation and utilization**. American Society of Agronomy, Madison, WI, 1994, p. 1-58.

REMOND, D.; ORTIGUES-MARTY, I.; ISSERTY, A. et al. Technical note: Measuring portal blood flow in sheep using an ultrasonic transit time flow probe. **Journal of Animal Science**, v. 76, p. 2712-2716, 1998.

REYNOLDS, C. K. Metabolism of nitrogenous compounds by ruminant liver. **The Journal of Nutrition**, v. 122, p. 850-854, 1992.

REYNOLDS, C. K. Quantitative aspects of liver metabolism in ruminants. In: W. V. Engelhardt, s. Leonhard-marek, g. Breves and d. Giesecke (ed.) ruminant physiology: Digestion, metabolism, growth and reproduction. **Enke Verlag, Stuttgart**, v., p. 351-371, 1995.

REYNOLDS, C. K.; TYRRELL, H. F.; REYNOLDS, P. J. Effects of diet forage-to-concentrate ratio and intake on energy metabolism in growing beef heifers: Net nutrient metabolism by visceral tissues. **Journal of Nutrition**, v. 121, p. 1004-1015 1991a.

\_\_\_\_\_. Effects of diet forage-to-concentrate ratio and intake on energy metabolism in growing beef heifers: Whole body energy and nitrogen balance and visceral heat production. **Journal of Nutrition**, v. 121, p. 994-1003, 1991b.

ROMPALA, R. E.; HOAGLAND, T. A. Effect of level of alimentation on visceral organ mass and the morphology and na<sup>+</sup>, k<sup>+</sup> adenosinetriphosphatase activity of intestinal mucosa in lambs. **Journal of Animal Science**, v. 65, p. 1058-1063, 1987.

ROMPALA, R. E.; JOHNSON, D. E.; RUMPLER, W. V. et al. Level of alimentation and line breeding on oxygen uptake by ovine jejunal mucosa. **American Journal of Physiology**, v. 252, p. 389-401, 1987.

RUSSELL, J. B.; O'CONNOR, J. D.; FOX, D. G. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminal fermentation. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 3551-3561, 1992.

SARRASECA, A.; MILNE, E.; METCALF, M. J. et al. Urea recycling in sheep: Effects of intake. **British Journal of Nutrition**, v. 79, p. 79-88, 1998.

SAS. **Analysis systems user's guide** Version 6. Cary, NC: SAS Institute. 2002.

SEAL, C. J.; PARKER, C. F. Influence of gastrointestinal metabolism on substrate supply to the liver. In: CRONJÉ, P. B. (eds.) **Ruminant physiology: Digestion, metabolism, growth and reproduction**. CAB International, Wallingford, 2000, p. 130-148.

SEAL, C. J.; REYNOLDS, C. K. Nutritional implications of gastrointestinal and liver metabolism in ruminants. **Nutrition Research Reviews**, v. 6, p. 185-208, 1993.

STORM, E.; ORSKOV, E. R. The nutritive value of rumen micro-organisms in ruminants. 1. Large-scale isolation and chemical composition of rumen micro-organisms. **British Journal of Nutrition**, v. 50, p. 463-470, 1983.

TAMMINGA, S.; SCHULZE, H.; VAN BRUCHEM, J. et al. The nutritional significance of endogenous n-losses along the gastro-intestinal tract of farm animals. **Archiv für Tierernährung**, v. 48, p. 9-22, 1995.

THOMPSON, G. E.; GARDNER, J. W.; BELL, A. W. The oxygen consumption, fatty acid and glycerol uptake of the liver in fed and fasted sheep during cold exposure. **Quarterly Journal of Experimental Physiology and Cognate Medical Sciences**, v. 60, p. 107-121, 1975.

THOMPSON, G. E.; MANSON, W.; CLARKE, P. L. et al. Acute cold exposure and the metabolism of glucose and some of its precursors in the liver of the fed and fasted sheep. **Quarterly Journal of Experimental Physiology and Cognate Medical Sciences**, v. 63, p. 189-199, 1978.

TURNER, H. G.; TAYLOR, C. S. Dynamic factors in models of energy utilization with particular reference to maintenance requirement of cattle. **World Review of Nutrition and Dietetics**, v. 42, p. 135-190, 1983.

VERNET, J.; NOZIÈRE, P.; LÉGER, S. et al. Responses of hepatic blood flows to changes in intake in sheep: A meta-analysis. **Animal**, v. 3, p. 1387-1400, 2009.

WEBSTER, A. J.; OSUJI, P. O.; WHITE, F. et al. The influence of food intake on portal blood flow and heat production in the digestive tract of sheep. **British Journal of Nutrition**, v. 34, p. 125-139, 1975.

WEBSTER, A. J. F.; BROCKWAY, J. M.; SMITH, J. S. Prediction of the energy requirements for growth in beef cattle 1. The irrelevance of fasting metabolism. **Animal Science**, v. 19, p. 127-139, 1974.

WILLIAMS, C. B.; JENKINS, T. G. A dynamic model of metabolizable energy utilization in growing and mature cattle. I. Metabolizable energy utilization for maintenance and support metabolism. **Journal of Animal Science**, v. 81, p. 1371-1381, 2003.

WOLFF, J.; BERGMAN, E. Gluconeogenesis from plasma amino acids in fed sheep. **American Journal of Physiology -- Legacy Content**, v. 223, p. 455-460, 1972.

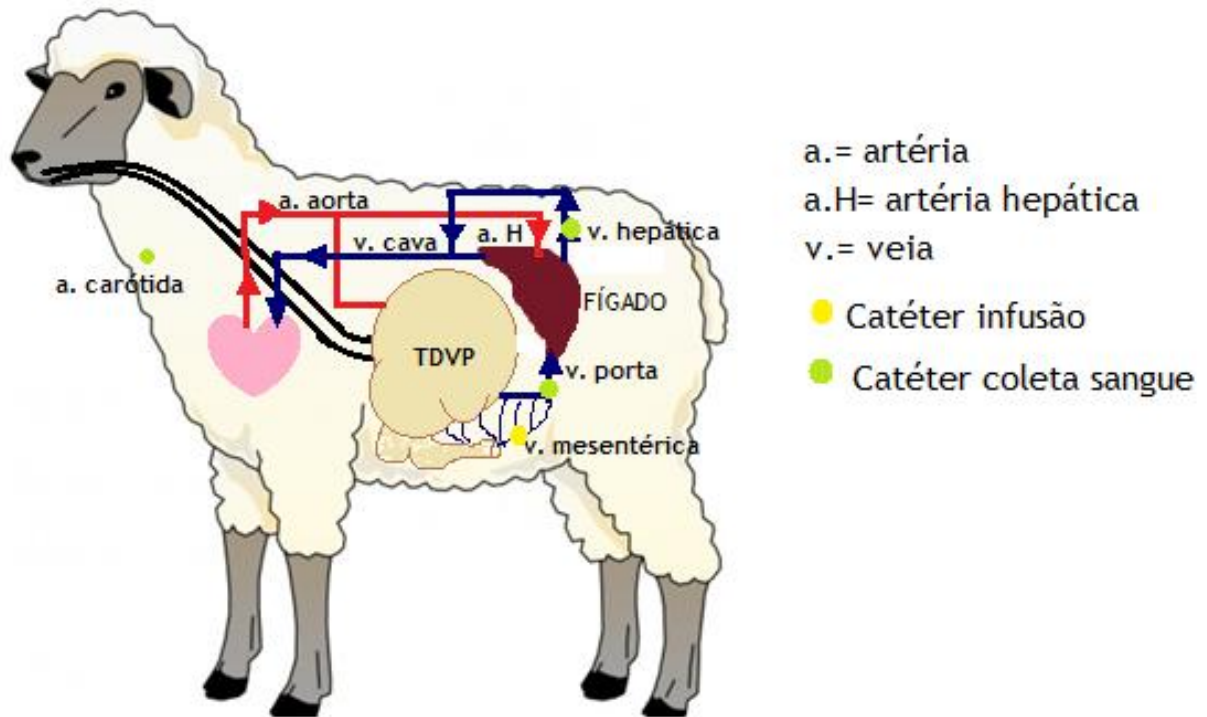
WRAY-CAHEN, D.; METCALF, J. A.; BACKWELL, F. R. et al. Hepatic response to increased exogenous supply of plasma amino acids by infusion into the mesenteric vein of holstein-friesian cows in late gestation. **British Journal of Nutrition**, v. 78, p. 913-930, 1997.

## **APÊNDICES**

**APÊNDICE A** – Descrição dos catéteres utilizados nos experimentos do Capítulo 1 e 2.

<b>Catéter</b>	<b>Material</b>	<b>Comprimento (cm)</b>	<b>Diâmetro interno (mm)</b>	<b>Diâmetro externo (mm)</b>
<i>Extensão do catéter</i>				
Mesentérico	PVC	50	1,5	3,1
Portal	PVC	35	1,5	3,1
Hepático	PVC	35	1,5	3,1
<i>Ponta do catéter</i>				
Mesentérico	Silicone	10-12 livre	1,5	2,4
Portal	Silicone	3 livre	1,5	2,4
Hepático	Silicone	7-8 cm livre	1,5	2,4

**APÊNDICE B** – Sítios de implantação dos catéteres nos ovinos dos experimentos do Capítulo 1 e 2.





**APÊNDICE C** – Entrada de dados para análise estatística do capítulo 1. A= animal, P= período, T= tratamento, Pvmédio= peso vivo médio, PM= peso metabólico, CMS= consumo de matéria seca, CMO= consumo de matéria orgânica, Ga, Gp e Gh= concentração de glicose no sangue arterial, portal e hepático, respectivamente, Ht= hematócrito, OxA, Oxp e OxH= concentração de oxigênio no sangue arterial, portal e hepático, respectivamente, FPP e FPV= fluxo de plasma portal e visceral, respectivamente, FSP, FSV e FHA=fluxo de sangue portal, visceral e hepático-arterial, respectivamente, FPOx, FVOx e FHOx= Fluxo de oxigênio portal, visceral e hepático, respectivamente, PCP, PCV e PCH=produção de calor portal, visceral e hepático, respectivamente, FPG, FVG e FHG= fluxo de glicose portal, visceral e hepático, respectivamente, CMOD= consumo de matéria orgânica digestível, CED= consumo de energia digestível, CEM= consumo de energia metabolizável.

A	P	T (g/kg PV/d)	Pvmédio (kg)	PM (kg0,75)	CMS (g/dia)	CMS (g/kg PV)	CMO (g/dia)	CMO (g/kg0,75)	Ga	Gp	Gh	Ht	OxA (ml/L)	OxP (ml/L)	Ox. H (ml/L)
4	3	14	42.8	16.7	592	13.8	545	32.5	527	525	531	22.1	131	113	101
4	1	7	46.2	17.7	323	7.0	297	16.8	422	407	484	26.1	158	137	123
4	2	21	45.7	17.6	861	18.8	792	45.1	638	637	639	22.7	134	114	99
147	1	21	50.0	18.8	1072	21.4	988	52.5	475	470	512	23.1	120	103	87
4	4	14	45.0	17.4	632	14.0	591	34.0	421	415	427	19.8	117	102	91
8	3	21	37.0	15.0	790	21.3	726	48.4	682	665	700	21.4	112	90	80
8	2	7	35.5	14.5	215	6.1	198	13.6	364	363	366	25.5	129	111	100
8	1	14	30.0	12.8	431	14.4	396	30.9	467	453	527	19.7	118	98	82
147	4	14	40.0	15.9	614	15.4	574	36.1	447	428	467	16.3	84	67	52
8	4	14	38.0	15.3	616	16.2	576	37.6	460	438	467	22.9	118	96	88
147	3	7	43.4	16.9	305	7.0	281	16.6	522	510	539	22.2	134	115	98
147	2	14	49.0	18.5	610	12.4	570	30.8	458	432	476	19.6	99	81	74

## APÊNDICE C – ...continuação.

FPP (L/h)	FPV (L/h)	FSP (L/h)	FSV (L/h)	FPOx. (ml/h)	PCP (kcal/h)	FVOx. (ml/h)	PCV (kcal/h)	FHOx. (ml/h)	PCH (kcal/h)	PCV (kcal/h)	FPG	FVG	FHG	FHA
64	77	82	99	1486	7.3	2960	14.5	1474	7	14.5	-139	307	446	17
53	95	72	128	1556	7.6	4508	22.0	2952	14	22.0	-795	5835	6631	57
85	128	110	165	2202	10.8	5732	28.0	3530	17	28.0	-85	128	213	55
106	128	138	166	2455	12.0	5504	26.9	3049	15	26.9	-531	4762	5294	28
88	137	110	171	1616	7.9	4327	21.2	2710	13	21.2	-529	791	1320	61
68	82	87	105	1880	9.2	3317	16.2	1437	7	16.2	-1160	1508	2667	18
65	94	87	126	1639	8.0	3705	18.1	2066	10	18.1	-65	188	253	39
48	89	60	111	1219	6.0	3971	19.4	2752	13	19.4	-671	5392	6063	52
85	101	102	120	1740	8.5	3854	18.8	2114	10	18.8	-1620	2019	3640	18
83	129	107	167	2383	11.7	4983	24.4	2600	13	24.4	-1810	937	2747	59
64	80	83	102	1547	7.6	3645	17.8	2097	10	17.8	-773	1367	2140	20
92	110	114	137	2002	9.8	3453	16.9	1451	7	16.9	-2392	2016	4409	23
CMOD (g/dia)	CED (kcal/d)	CEM (kcal/d)	PCP (kcal/h)	PCP (kcal/d)	PCV (kcal/h)	PCV (kcal/d)	PCP/CED	PCP/CEM	PCV/CED	PCV/CEM				
332	1465	1201	7.27	174	14.48	347	0.12	0.15	0.24	0.29				
181	799	655	7.61	183	22.04	529	0.23	0.28	0.66	0.81				
483	2130	1747	10.77	258	28.03	673	0.12	0.15	0.32	0.39				
603	2657	2178	12.01	288	26.92	646	0.11	0.13	0.24	0.30				
360	1589	1303	7.90	190	21.16	508	0.12	0.15	0.32	0.39				
443	1953	1601	9.19	221	16.22	389	0.11	0.14	0.20	0.24				
121	533	437	8.02	192	18.12	435	0.36	0.44	0.82	1.00				
242	1065	873	5.96	143	19.42	466	0.13	0.16	0.44	0.53				
350	1544	1266	8.51	204	18.85	452	0.13	0.16	0.29	0.36				
351	1549	1270	11.65	280	24.37	585	0.18	0.22	0.38	0.46				
171	755	619	7.57	182	17.82	428	0.24	0.29	0.57	0.69				
348	1534	1258	9.79	235	16.88	405	0.15	0.19	0.26	0.32				

**APÊNDICE D** – Entrada de dados para análise estatística do capítulo 2. AN= animal, P= período, T= tratamento, PAH= ácido paraminohipúrico, Ht= hematócrito, Hb=hemoglobina, A= arterial, P= portal, H= hepático.

AN	P	T	PAH (mg/L)			Glicose (mg/L plasma)			Amônia (mg/L)			Ht	Pressão de O <sub>2</sub> (mmHg)			Saturação de O <sub>2</sub> (%)			Hb	Oxigênio (ml/h)			Fluxo plasma (L/h)	
			A	P	H	A	P	H	A	P	H		A	P	H	A	P	H		A	P	H	P	V
4	1	bic	39	56	53	579	552	592	9	14	9	23	140	55	46	97	86	80	12	161	141	131	82	101
4	2	ala	39	58	54	632	618	661	10	12	10	22	109	56	51	94	86	83	11	141	128	123	74	95
4	3	arg	36	56	47	578	566	608	9	11	8	20	132	57	50	97	86	81	9	126	111	104	69	121
4	4	con	37	53	48	506	496	509	11	13	11	20	128	56	44	98	87	78	9	117	102	91	87	130
6	1	ala	41	60	55	602	606	634	12	16	11	18	118	57	51	96	78	67	7	95	76	65	72	94
6	2	con	51	69	64	517	500	549	10	13	10	16	111	57	45	96	78	61	6	84	67	52	76	109
6	3	bic	59	79	76	508	500	527	11	15	11	14	137	58	44	98	79	63	6	78	62	49	68	79
6	4	arg	64	84	81	518	512	563	11	13	10	12	115	59	44	97	76	62	5	74	57	46	70	85
8	1	con	49	76	63	536	514	550	12	14	11	23	111	54	46	98	80	74	9	118	96	88	60	105
8	2	arg	47	63	59	646	632	650	11	13	10	21	126	60	49	98	84	79	8	113	96	89	85	115
8	3	ala	53	67	64	573	562	614	13	14	12	19	123	63	50	98	85	76	7	100	85	76	91	114
8	4	bic	55	74	68	482	475	492	12	15	11	18	116	55	46	98	81	73	7	95	77	70	72	106
147	1	arg	41	61	57	615	601	636	14	18	14	22	112	51	46	98	83	76	8	114	96	88	70	87
147	2	bic	41	59	56	556	550	567	14	20	14	19	116	50	41	98	81	70	7	101	82	71	76	89
147	3	con	48	63	59	559	542	577	12	15	12	20	123	52	44	98	82	75	7	99	81	74	93	120
147	4	ala	52	67	64	626	622	644	11	13	10	20	135	57	47	98	87	78	8	104	90	81	93	107

**APÊNDICE D – ...continuação.**

Fluxo de sangue (L/h)		Fluxo de Oxigênio (mL/h)			Produção de calor (Kcal/h)			Fluxo de Glicose (mg/h)			Fluxo de N-amônia (mg/h)			Fluxo de N-ureia (mg/h)		
P	V	P	V	H	P	V	H	P	V	H	P	V	H	P	V	H
106	131	-2192	-3992	-1800	10.7	19.5	8.8	-2282	1274	3556	432	51	-381	-123	455	578
96	122	-1233	-2123	-890	6.0	10.4	4.4	-1123	2808	3931	167	-55	-222	-321	319	641
86	152	-1360	-3384	-2024	6.7	16.5	9.9	-781	3666	4447	188	-33	-220	-235	401	636
108	162	-1591	-4103	-2512	7.8	20.1	12.3	-808	457	1265	189	46	-143	-266	70	336
88	114	-1628	-3360	-1732	8.0	16.4	8.5	247	2926	2679	276	-58	-334	-255	485	740
91	130	-1561	-4167	-2606	7.6	20.4	12.7	-1314	3569	4884	256	1	-254	-467	558	1026
79	92	-1278	-2656	-1378	6.3	13.0	6.7	-536	1547	2083	270	-22	-292	-622	669	1291
80	97	-1309	-2642	-1333	6.4	12.9	6.5	-486	4037	4522	171	-32	-202	-425	309	734
78	136	-1722	-4057	-2336	8.4	19.8	11.4	-1309	1322	2631	137	-25	-162	-413	596	1009
108	147	-1897	-3522	-1625	9.3	17.2	7.9	-1103	554	1657	202	-61	-262	-457	775	1232
113	142	-1658	-3329	-1671	8.1	16.3	8.2	-1000	4753	5753	176	-82	-259	45	1072	1027
88	129	-1594	-3340	-1747	7.8	16.3	8.5	-538	1064	1603	249	-92	-341	-89	1090	1180
89	112	-1634	-2924	-1290	8.0	14.3	6.3	-933	1847	2780	239	-72	-311	-436	770	1206
95	111	-1768	-3349	-1580	8.6	16.4	7.7	-440	990	1430	419	-4	-423	-333	329	662
116	149	-2031	-3745	-1713	9.9	18.3	8.4	-1606	2031	3637	308	-18	-326	-180	369	549
116	133	-1586	-3125	-1539	7.8	15.3	7.5	-341	1887	2228	198	-119	-316	-116	150	266