

AMINOACIDEMIA CANINA EM DIFERENTES SITUAÇÕES CLÍNICAS

Resumo: Conhecer o perfil sanguíneo de aminoácidos de animais em diferentes situações clínicas de modo a auxiliar no diagnóstico precoce da doença. Estudos recentes mostram alterações no perfil de aminoácidos em diversas doenças, alterações que podem auxiliar no diagnóstico, tratamento e manejo nutricional, podendo garantir melhor prognóstico ao paciente.

Entretanto, a literatura a respeito ainda é escassa, assim, novas pesquisas são necessárias para aumentar a possibilidade do uso da aminoacidemia como biomarcador nas doenças.

Palavras-chave: Aminoacidemia, manejo nutricional, biomarcador, diagnóstico

INTRODUÇÃO

Aminoácidos desempenham papel importante como substrato e regulador de diferentes vias metabólicas¹. Mensurar os aminoácidos nos fluidos corporais fornece informações importantes sobre a condição bioquímica e nutricional associada a diversas doenças². Na medicina humana, as alterações no perfil de aminoácidos em certas doenças auxiliam como método diagnóstico precoce³.

Na medicina veterinária há pesquisas sobre alterações no perfil de aminoácidos em algumas afecções, porém não foram encontradas revisões que compilem esses dados, o que é o objetivo deste trabalho.

Doença Inflamatória Intestinal (DII)

A DII é considerada um grupo de doenças persistentes ou recorrentes, manifestações gastrointestinais de causa indeterminada associados a achados histológicos de inflamação na mucosa do intestino.²⁰

Tamura et al. (2019)³, constataram concentrações plasmáticas baixas de metionina, prolina, serina e triptofano em 10 cães diagnosticados com DII; correlação negativa da serina com o *Índice de atividade clínica de enteropatia crônica canina* (CCECAI). A serina é um aminoácido que age no receptor ativado por protease (PAR)-2 que é amplamente expresso, mas particularmente no intestino⁴. A protease PAR-2 intestinal e serino-protease fecal apresentam-se em maiores quantidades em cães com DII o que pode contribuir para a expressão de citocina intestinal⁵.

Já foi constatado disbiose intestinal com presença notável de Enterobacteriaceae fecal em cães com DII⁶, bactéria a qual produz serino-proteases induzindo resposta inflamatória através do PAR-2^{7,8}. Logo, a concentração da serina plasmática pode ser um novo marcador para DII.

Além disso, Tamura et al. (2019)³ não viram diferença da aminoacidemia dos cães com DII e hipoalbuminemia e os com albumina normal. O que denota uma possível baixa relação entre albuminemia e a aminoacidemia canina.

Enteropatia com Perda Proteica (PLE)

Comentado [BCM CB1]: Não sei se é essa a correta tradução de proteinlosing enteropathy mas foi a única que eu achei na literatura em português

Cães diagnosticados com PLE apresentam hipoproteinemia resultante de um aumento na perda proteica para o meio intestinal. São animais possivelmente têm maior necessidade proteica dietética para suprir às perdas e a alta demanda pela inflamação contínua. Como apresentam hipo- ou anorexia, são mais propensos a desenvolver deficiência de aminoácidos essenciais⁹

Em animais diagnosticados com PLE, o triptofano apresentou a concentração sérica mais baixa em comparação a cães saudáveis. Este é um aminoácido essencial a cães e age como precursor para compostos bioativos como a quinurenina, serotonina, melatonina e ácido picolínico.¹⁰ As baixas concentrações de triptofano podem ser resultantes do mecanismo semelhante ao que ocorre em humanos com DII: a maior expressão da enzima indoleamina 2,3-dioxigenase 1 (IDO-1) que causa maior catabolismo do triptofano.¹¹

Hepatopatia crônica:

No estudo realizado por Lawrence et al. (2019)¹², cães animais foram separados em três grupos: clinicamente saudáveis, com hepatite crônica e com desvio portossistêmico (DPS) congênito, a fim de avaliar se havia alguma diferença metabólica. Os cães com DPS apresentaram maior concentração dos aminoácidos aromáticos (AAAs) tirosina e fenilalanina, menores dos aminoácidos de cadeia ramificada (BCAAs) leucina, isoleucina e valina. Mudanças no metabolismo de BCAAs e AAAs têm papel importante na patogênese das complicações do estágio final da hepatopatia, como encefalopatia hepática e hipoalbuminemia¹³.

A razão entre BCAA/AAA, também conhecida como razão de Fischer, é um indicador importante de insuficiência hepática, e diminui com a gravidade da

disfunção hepática¹⁴, e já foi associada a queda na função hepática por hipoperfusão.¹⁵⁻¹⁷ A biossíntese e secreção de albumina pelos hepatócitos diminui quando a razão de Fischer apresenta-se menor e, geralmente, está associada a pior prognóstico aos pacientes com hepatopatia crônica^{18,19}.

Necrose Epidérmica Metabólica (NEM)

A NEM, também conhecida como síndrome hepatocutânea, é uma doença endócrino-metabólica rara que se manifesta na pele e com repercussões sistêmicas. Em humanos, foi primeiramente associada ao neoplasma pancreático secretor de glucagon, entretanto, em cães a NEM comumente associada à doença hepática²⁰⁻²⁵.

No estudo de Outerbride et al. (2002)²⁶, buscou-se avaliar a concentração de aminoácidos plasmáticos de cães portadores de NEM e comparar com valores previamente determinados em cães com hepatite aguda e crônica^{27,28}. Todos os cães diagnosticados com NEM apresentaram importante hipoaminoacidemia. De 22 aminoácidos inicialmente avaliados, 15 apresentavam valores significativamente diferentes em pacientes com NEM quando comparados a pacientes com hepatite crônica. Já quando comparados a pacientes com hepatite aguda, apenas 12 dos 19 aminoácidos avaliados apresentavam valores significativamente mais baixos em animais com NEM. A concentração total de aminoácidos documentada em animais com NEM foi 30% do total da concentração vista em cães saudáveis ou com hepatite aguda ou crônica.

Neste estudo, apenas quatro aminoácidos não apresentaram valores diferentes: ácido glutâmico, fenilalanina, triptofano e ornitina. Outros estudos que avaliaram aminoácidos plasmáticos em cães diagnosticados com NEM

obtiveram os mesmos resultados²⁹⁻³¹. A média de todos os outros aminoácidos chegam a cerca de 60% ou menos do valor de referência para cães saudáveis. Os valores médios para glutamina, arginina, treonina e prolina foram menos de 20% do valor de referência de cães saudáveis. Entretanto, houve variação entre os animais avaliados, de 36 animais, 26 apresentaram glutamina ou arginina como o aminoácido com a concentração mais diminuída.

Pode ser que a depleção de ácido glutâmico não seja tão alta pelo fato de ser produzido pela transaminação de outros aminoácidos³². Já o triptofano pode não ser afetado pois seu catabolismo não é influenciado pelo glucagon enquanto quase todos os outros aminoácidos têm o catabolismo aumentado por esse hormônio. O glucagon³³. Segundo o autor do estudo, esta hipótese talvez não seja aplicável aos cães pois diferentemente dos humanos onde a NEM é bastante associada ao glucagonoma, nos cachorros com NEM parece haver mais hepatopatia em si.

Já para esta doença, a razão de Fischer parece não ser um importante marcador, pois nos cães com NEM foi de 2,6, enquanto a maioria dos cães com insuficiência hepática grave apresentam valores menores que 1,5, e é considerado valor normal aproximadamente 3,0 a 4,0³⁴.

O autor do estudo, supõe que o catabolismo hepático aumentado de aminoácidos é a possível explicação para hipoaminoacidemia dos cães com NEM. E como houve hipoaminoacidemia grave em todos os casos de NEM, aventasse que essa alteração contribua para as lesões cutâneas vistas nos cães acometidos.

Neoplasias cerebrais

A ressonância magnética é considerada o melhor meio diagnóstico para tumores cerebrais pois estes não são detectados por exames de sangue ou radiografias.³⁵

Neste contexto, Utisugi e colaboradores (2017)³⁶ observaram que três aminoácidos, alanina, prolina e isoleucina, apresentam concentrações plasmáticas maiores em cães com neoplasias cerebrais quando comparados ao de cães controle. No estudo foi analisada possibilidade de haver associação entre o perfil de aminoácidos e o tipo de tumor, e foi constatado que as concentrações de asparagina e glutamina eram maiores em animais com glioma quando comparado aos cães com meningiomas, sem alterações em outros aminoácidos. O estudo ainda comparou os perfis de aminoácidos de animais controle, com tumor e com epilepsia idiopática, e percebeu que as concentrações plasmáticas de aspartato de cães com epilepsia idiopática eram menores do que a de cães saudáveis, o que levou a suspeita de que esse resultado esteja associado a crises convulsivas, mas ainda sem nenhuma evidência na literatura.

O autor do estudo acredita que o perfil de aminoácidos de sangue periférico reflita o metabolismo de tumor cerebral e possa facilitar o diagnóstico diferencial entre epilepsia idiopática e epilepsia sintomática já que a convulsão pode ser resultante dos tumores cerebrais.

Neoplasia de glândula mamária

Tumores de glândulas mamárias são muito comuns em fêmeas caninas e cerca de 40-50% destes tumores são malignos³⁷, mas a confirmação é feita com base em exames histopatológicos.

A comparação do perfil de aminoácido de cães com neoplasia mamária foi comparado com de cães saudáveis³⁸ e foi observado valores de aminoácidos totais menores nos animais com tumor de glândula mamária (com ou sem metástase) quando comparado a animais saudáveis. Quando comparada a concentração de aminoácidos essenciais e não essenciais, foi visto que não era menor quando comparado ao grupo controle, mas no grupo de animais com metástase os valores foram menores em comparação ao grupo de animais sem metástase. Comparados separadamente, o grupo sem metástase apresentava concentrações plasmáticas de metionina, serina, asparagina, glutamina, alanina, taurina e citrulina menores quando comparada ao grupo controle. Já no caso do grupo com metástase, as concentrações de metionina, lisina, histidina, arginina, aspartato, serina, asparagina, glutamato, glutamina, alanina, taurina, citrulina e orginina eram que do grupo controle. E entre o grupo com e sem metástase, aspartato e orinitina foram menores no grupo metástase.

Esses resultados confirmam a mudança de aminoacidemia de pacientes com neoplasia mamária, e a concentração plasmática de aspartato e ornitina pode ser uma ferramenta para predizer metástases ou prognóstico do paciente.

Linfoma

O linfoma é uma doença de elevada incidência na população canina mundial, e a neoplasia mais comumente tratada em cães³⁹. O diagnóstico e classificação da doença são baseados em achados histológicos e características imunofenotípicas⁴⁰. Na busca por potenciais biomarcadores uteis à doença, foram avaliados 29 metabólitos sanguíneos dos quais 16 apresentavam valores diferentes em comparação ao grupo controle, como a fenilalanina e o ácido

glutâmico, que estavam aumentados. Em humanos, a fenilalanina plasmática já mostrou-se alterada em alguns tipos de neoplasias, como aumento nos casos de câncer de pulmão⁴¹ e diminuído em câncer de esôfago, endométrio, colorretal e em câncer de mama. E o ácido glutâmico aumentado no câncer colorretal e de mama⁴²⁻⁴⁴. Logo, avaliação do perfil plasmático de fenilalanina e ácido glutâmico pode ser útil na detecção precoce de vários tipos de câncer.

Melanoma de cavidade oral

O melanoma de caráter maligno é um tumor comum e agressivo da cavidade oral de cães⁴⁵⁻⁴⁷, com um prognóstico ruim^{48,49}, sendo essencial o diagnóstico precoce. No estudo de Kawabe, M. (2015)⁵⁰, foram avaliados o perfil de metabólitos plasmáticos em cães saudáveis e nos com melanoma maligno de cavidade oral. Dos 46 metabólitos avaliados, 20 mostraram valores diferentes entre os grupos, com os aminoácidos treonina, prolina e serina em concentrações mais baixas. Agora são necessários estudos para avaliar a especificidade desses aminoácidos como biomarcador sérico para a doença.

Cães em estado crítico

Em estudo com cães⁵¹, houve depleção significativa de alguns aminoácidos plasmáticos em pacientes em estado crítico: alanina, arginina, citrulina, glicina, metionina, prolina e serina. Em contrapartida, a concentração de fenilalanina se mostrou mais alta, o que resultou em uma razão de Fischer mais baixa. Não houve diferença significativa entre animais com sepse, pancreatite e trauma, diferentemente do que era esperado uma vez que, em

humanos, algumas dessas doenças estão associadas com depleção de aminoácidos específicos⁵²⁻⁵⁴.

Animais que sobreviveram após passar por esse estado crítico apresentaram concentrações mais altas de arginina, serina e BCAA e uma razão de Fischer mais alta quando comparado aos não sobreviventes. A maior circulação de arginina e BCAA nos sobreviventes é consistente com os estudos que mostram os benefícios da suplementação de arginina e BCAA aos indivíduos com sepse e que sofreram trauma⁵⁵⁻⁵⁷. Neste estudo, ainda se aplicou o índice de previsão de sobrevivência que se mostrou negativamente correlacionado aos aminoácidos a glutamina e a cisteína.

Obesidade

Obesidade é uma doença preocupante na medicina veterinária devido sua alta prevalência e complicações, que culminam em baixa qualidade e expectativa de vida, com aumento a susceptibilidade a doenças crônicas⁵⁸⁻⁶⁵

Soder et al. (2019)⁶⁶ constataram que cães em sobrepeso têm alteração na concentração sanguínea de diversos componentes, inclusive a carnitina, quando comparado a cães no escore de condição corporal ideal. Apesar de este estudo não ter encontrado diferença na concentração de aminoácidos, acredita-se que pesquisas neste contexto com cães obesos são válidas, pois para humanos obesos há evidências de alteração no metabolismo de aminoácidos, principalmente naqueles com resistência insulínica⁶⁷⁻⁷¹

Considerações finais

Na presente revisão, foi possível observar que metionina, prolina, serina e triptofano podem estar associados a DII, assim como triptofano a PLE; tirosina, fenilalanina, leucina, isoleucina e valina ao desvio portossistêmico; ácido glutâmico, fenilalanina, triptofano e ornitina ao NEM; alanina, prolina e isoleucina, lisina e aspartato ao tumor cerebral; aspartato e ornitina a metástases em neoplasias de glândulas mamárias; fenilalanina e ácido glutâmico ao linfoma; treonina, prolina e serina ao melanoma de cavidade oral; alanina, arginina, citrulina, glicina, metionina, prolina, serina e fenilalanina a pacientes em estado crítico. Cada situação clínica parece ter sua particularidade metabólica que justifique as alterações.

Entretanto, a literatura a respeito ainda é escassa, e cada estudo apresenta limitações como não padronização dietética, ausência de informações detalhadas sobre os animais e baixo n amostral. Assim, novas pesquisas são necessárias para aumentar a possibilidade do uso da aminoacidemia como biomarcador nas doenças e aprimorar o manejo nutricional como prevenção e tratamento de doenças.

REFERÊNCIAS:

1. Brosnan JT. Interorgan amino acid transport and its regulation. *J Nutr* 2003, 133 (6 Suppl), 2068S-2072S.)
2. Tochikubo O, Ando T. Amino Acids and Life-style Related Diseases – Application of New Aminograms in Life Science. Pp. 70-120. Kagawa Nutrition University Publishing Division, Tokyo, 2010.
3. Guilford WG. Idiopathic inflammatory bowel diseases. In: Guilford WG, Center SA, Strombeck DR, et al, eds. *Strombeck's Small Animal Gastroenterology*, 3rd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders; 1996:451–486.

4. Tamura, Y., Ohta, H., Kagawa, Y., Osuga, T., Morishita, K., Sasaki, N., & Takiguchi, M. (2019). *Plasma amino acid profiles in dogs with inflammatory bowel disease. Journal of Veterinary Internal Medicine.*
5. Maeda S, Ohno K, Uchida K, et al. Intestinal protease-activated receptor-2 and fecal serine protease activity are increased in canine inflammatory bowel disease and may contribute to intestinal cytokine expression. *J Vet Med Sci.* 2014;76:1119-1127.
6. Minamoto Y, Otoni CC, Steelman SM, et al. Alteration of the fecal microbiota and serum metabolite profiles in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. *Gut Microbes.* 2015;6:33-47
7. Kida Y, Inoue H, Shimizu T, Kuwano K. *Serratia marcescens* serralyisin induces inflammatory responses through protease-activated receptor 2. *Infect Immun.* 2007;75:164-174.
8. Hansen KK, Sherman PM, Cellars L, et al. A major role for proteolytic activity and proteinase-activated receptor-2 in the pathogenesis of infectious colitis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005;102:8363-8368.
- 9.
10. Richard DM, Dawes MA, Mathias CW, Acheson A, Hill-Kapturczak N, Dougherty DM. L-Tryptophan: Basic metabolic functions, behavioral research and therapeutic indications. *Int J Tryptophan Res.* 2009;2:45–60.
11. Gupta NK, Thaker AI, Kanuri N, et al. Serum analysis of tryptophan catabolism pathway: Correlation with Crohn's disease activity. *Inflamm Bowel Dis.* 2012;18:1214–1220.
12. LAWRENCE ET AL
13. Fischer JE, Funovics JM, Aguirre A, et al. The role of plasma amino acids in hepatic encephalopathy. *Surgery.* 1975;78(3):276-290.
Medical Science, 77(8), 1025–1028.
14. Askanazi J, Carpentier YA, Michelsen CB, et al. Muscle and plasma amino acids following injury. Influence of concurrent infection. *Ann Surg* 1980;192:78–
15. Roth E, Zoch G, Schultz F, et al. Amino acid concentrations in plasma and skeletal muscle of patients with acute hemorrhagic necrotizing pancreatitis. *Clin Chem* 1985;31:1305–1309.
16. Oudemans-van Stratte HM, Bosman HM, Treskes M, et al. Plasma glutamine depletion and patient outcomes in acute ICU admission. *Intensive Care Med* 2001;27:84–90.
17. Noguchi Y, James JH, Fischer JE, Hasselgren P. Increased glutamine consumption in small intestine epithelial cells during sepsis in rats. *Am J Surg* 1996;172:199–205.
18. Proenza AM, Oliver J, Palou A and Roca P: Breast and lung cancer are associated with a decrease in blood cell amino acid content. *J Nutr Biochem* 14: 133-138, 2003

19. NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC) (ed.) Nutrients Requirements of Dogs and Cats. Washington (DC): National Academy Press, 2006.
20. Burkholder WJ, Toll PW. Obesity. In: Hand MS, Thatcher CD, Reimillard RL, Roubesh P, Morris ML, Novotny BJ, editors. Small animal clinical nutrition, 4th edition. Topeka, KS: Mark Morris Institute. 2000; p. 401–30.
21. Caballero B. The global epidemic of obesity: an overview. *Epidemiol Rev.* 2007;29:1–5.
22. Askanazi J, Carpentier YA, Michelsen CB, et al. Muscle and plasma amino
23. Oudemans-van Stratte HM, Bosman HM, Treskes M, et al. Plasma glutamine depletion and patient outcomes in acute ICU admission. *Intensive Care Med* 2001;27:84–90.
24. Hulsewe KW, van Acker BA, von Meyenfeldt MF, et al. Nutritional depletion and dietary manipulation: Effects on the immune response. *World J Surg* 1999;23:536–544.
25. McCullough AJ, Tavil AS. Disordered energy and protein metabolism in liver disease. *Semin Liver Dis.* 1991;11(4):265-277.
26. Gupta NK, Thaker AI, Kanuri N, et al. Serum analysis of tryptophan catabolism pathway: Correlation with Crohn's disease activity. *Inflamm Bowel Dis.* 2012;18:1214–1220.
27. Maeda S, Ohno K, Uchida K, et al. Intestinal protease-activated receptor-2 and fecal serine protease activity are increased in canine inflammatory bowel disease and may contribute to intestinal cytokine expression. *J Vet Med Sci.* 2014;76:1119-1127.
28. Minamoto Y, Otoni CC, Steelman SM, et al. Alteration of the fecal microbiota and serum metabolite profiles in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. *Gut Microbes.* 2015;6:33-47
29. Poldervaart JH, Favier RP, Penning LC, van den Ingh TSGAM, Rothuizen J. Primary hepatitis in dogs: a retrospective review (2002-2006). *J Vet Intern Med.* 2009;23(1):72-80
30. Wang XY, Li N, Gu J, et al. The effects of the formula of amino acids enriched BCAA on nutritional support in traumatic patients. *World J Gastroenterol* 2003;9:599–602.
31. Garcia-de-Lorenzo A, Ortiz-Leyba C, Planas M, et al. Parenteral administration of different amounts of branch-chain amino acids in septic patients: Clinical and metabolic aspects. *Crit Care Med* 1997;25:418–424
32. Ochoa JB, Makarenkova V, Bansal V. A rational use of immune enhancing diets: When should we use dietary arginine supplementation? *Nutr Clin Pract* 2004;19:216–225
33. Rutgers C, Stradley RP, Rogers WA. Plasma amino acid analysis in dogs with experimentally induced hepatocellular and obstructive jaundice. *Am J Vet Res.* 1987;48(4):696-702

34. Aguirre A, Yoshimura N, Westman T, Fischer JE. Plasma amino acids in dogs with two experimental forms of liver damage. *J Surg Res.* 1974;16(4):339-345.
35. Schaeffer MC, Rogers QR, Leung PM, Wolfe BM, Strombeck DR. Changes in cerebrospinal fluid and plasma amino acid concentrations with elevated dietary protein concentration in dogs with portocaval shunts. *Life Sci.* 1991;48(23):2215-2223.
36. Steigmann F, Szanto PB, Poulos A, Lim PE, Dubin A. Significance of serum aminograms in diagnosis and prognosis of liver diseases. *J Clin Gastroenterol.* 1984;6(5):453-460.
37. Okuno M, Moriwaki H, Kato M, Muto Y, Kojima S. Changes in the ratio of branched-chain to aromatic amino acids affect the secretion of albumin in cultured rat hepatocytes. *Biochem Biophys Res Commun.* 1995;214(3):1045-1050.
38. BYRNE, K.P. Metabolic epidermal necrosis-hepatocutaneous syndrome. *Veterinary clinics of North America: Small Animal Practice*, v.29, n.6, p.1337-1355, 1999.
39. MILLER, W.H. Jr. et al. Necrolytic migratory erythema in dogs: a hepatocutaneous syndrome. *Journal of the American Animal Hospital Association*, v.26, p.573-581, 1990.
40. OUTERBRIDGE, C.A. Hepatocutaneous syndrome. In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. *Textbook of veterinary internal medicine*. 6.ed. St Louis: Elsevier Saunders, 2005. V.1, cap.19, p.72-75.
41. PATEL, A. et al. Case report: a case of metabolic epidermal necrosis in a cat. *Veterinary Dermatology*, v.7, p.221-226, 1996
42. SCOTT, D.W. et al. *Small animal dermatology*. 6.ed. Philadelphia: Saunders, 2001. 1528p.
43. Strombeck, D.R., Rogers, Q. Plasma amino acid concentrations in dogs with hepatic disease. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1978; 173: 93– 6.
44. Strombeck, D.R., Harrold, D., Rogers, Q., Wheeldon, E., Stern, J., Schaeffer, M. Plasma amino acid, glucagon and insulin concentrations in dogs with nitrosamine-induced hepatic disease. *American Journal of Veterinary Research* 1983; 44: 2028–36.
45. Walton, D.K., Center, C.A., Scott, D.W., Collins, K. Ulcerative dermatosis associated with diabetes mellitus in the dog; a report of four cases. *Journal of the American Animal Hospital Association* 1986; 22: 79–88.
46. Utsugi, S., Azuma, K., Osaki, T., Murahata, Y., Tsuka, T., Ito, N., Imagawa T., Okamoto, Y. (2016). *Analysis of plasma free amino acid profiles in canine brain tumors. Biomedical Reports*, 6(2), 195–200. doi:10.3892/br.2016.825
47. Kato Y, Asano K, Mogi T, Kutara K, Teshima K, Edamura K, Tsumagari S, Hasegawa A, Tanaka S. Clinical significance of circulating vascular endothelial

growth factor in dogs with mammary gland tumors. *J Vet Med Sci* 2007, 69, 77-80.

50. HOSKINS, J. Confirmation needed for lymphoma. *Biological & Agricultural DVM*, v.32, p.16S-20S, 2001

51. Vali, D. M. and Young, K. M. 2007. Canine lymphoma and lymphoid leukemia. pp. 699–733. In: *Small Animal Clinical Oncology*, 4th ed. (Withrow, S. J. and MacEwen, E. G. eds.), Saunders, Philadelphia.

52. Maeda, J., Higashiyama, M., Imaizumi, A., Nakayama, T., Yamamoto, H., Daimon, T., Yamakado, M., Imamura, F. and Kodama, K. 2010. Possibility of multivariate function composed of plasma amino acid profiles as a novel screening index for nonsmall cell lung cancer: a case control study. *BMC Cancer* 10: 690. [Medline] [CrossRef]

53. Ihata, Y., Miyagi, E., Numazaki, R., Muramatsu, T., Imaizumi, A., Yamamoto, H., Yamakado, M., Okamoto, N. and Hirahara, F. 2014. Amino acid profile index for early detection of endometrial cancer: verification as a novel diagnostic marker. *Int. J. Clin. Oncol.* 19: 364–372. [Medline]

54. Norton, J. A., Gorschboth, C. M., Wesley, R. A., Burt, M. E. and Brennan, M. F. 1985. Fasting plasma amino acid levels in cancer patients. *Cancer* 56: 1181–1186. [Medline] [CrossRef]

55. Okamoto, N., Miyagi, Y., Chiba, A., Akaike, M., Shinozawa, M., Imaizumi, A., Yamamoto, H., Ando, T., Yamakado, M. and Tochikubo, O. 2008. Diagnostic modeling with differences in plasma amino acid profiles between non-cachectic colorectal/ breast cancer patients and healthy individuals. *Int. J. Med. Med. Sci.* 1: 1–8.

56. Bradley, R. L., MacEwen, E. G. and Loar, A. S. 1984. Mandibular resection for removal of oral tumors in 30 dogs and 6 cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 184: 460–463. [Medline]

57. Smith, S. H., Goldschmidt, M. H. and McManus, P. M. 2002. A comparative review of melanocytic neoplasms. *Vet. Pathol.* 39: 651–678. [Medline] [CrossRef]

58. Todoroff, R. J. and Brodey, R. S. 1979. Oral and pharyngeal neoplasia in the dog: a retrospective survey of 361 cases. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 175: 567–571. [Medline]

59. Bolon, B., Calderwood Mays, M. B. and Hall, B. J. 1990. Characteristics of canine melanomas and comparison of histology and DNA ploidy to their biologic behavior. *Vet. Pathol.* 27: 96–102. [Medline] [CrossRef]

60. Harvey, H. J., MacEwen, E. G., Braun, D., Patnaik, A. K., Withrow, S. J. and Jongeward, S. 1981. Prognostic criteria for dogs with oral melanoma. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 178: 580–582. [Medline]

61. KAWABE, M., BABA, Y., TAMAI, R., YAMAMOTO, R., KOMORI, M., MORI, T., & TAKENAKA, S. (2015). *Profiling of plasma metabolites in canine oral melanoma using gas chromatography-mass spectrometry. Journal of Veterinary Medical Science, 77(8), 1025–1028.*

62. Chan, D. L., Rozanski, E. A., & Freeman, L. M. (2009). *Relationship among Plasma Amino Acids, C-Reactive Protein, Illness Severity, and Outcome in Critically Ill Dogs*. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 23(3), 559–563. doi:10.1111/j.1939-1676.2009.0296.x
63. Askanazi J, Carpentier YA, Michelsen CB, et al. Muscle and plasma amino acids following injury. Influence of concurrent infection. *Ann Surg* 1980;192:78–
64. Oudemans-van Stratte HM, Bosman HM, Treskes M, et al. Plasma glutamine depletion and patient outcomes in acute ICU admission. *Intensive Care Med* 2001;27:84–90.
65. Hulsewe KW, van Acker BA, von Meyenfeldt MF, et al. Nutritional depletion and dietary manipulation: Effects on the immune response. *World J Surg* 1999;23:536–544.
66. Wang XY, Li N, Gu J, et al. The effects of the formula of amino acids enriched BCAA on nutritional support in traumatic patients. *World J Gastroenterol* 2003;9:599–602.
67. Garcia-de-Lorenzo A, Ortiz-Leyba C, Planas M, et al. Parenteral administration of different amounts of branch-chain amino acids in septic patients: Clinical and metabolic aspects. *Crit Care Med* 1997;25:418–424
68. Ochoa JB, Makarenkova V, Bansal V. A rational use of immune enhancing diets: When should we use dietary arginine supplementation? *Nutr Clin Pract* 2004;19:216–225
69. Burkholder WJ, Toll PW. Obesity. In: Hand MS, Thatcher CD, Reimillard RL, Roudebush P, Morris ML, Novotny BJ, editors. *Small animal clinical nutrition*, 4th edition. Topeka, KS: Mark Morris Institute. 2000; p. 401–30.
70. Caballero B. The global epidemic of obesity: an overview. *Epidemiol Rev*. 2007;29:1–5.
71. German AJ. The growing problem of obesity in dogs and cats. *J Nutr*. 2006;136:1940–6.