

LUCIANO OKAWA

INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO ENTERAL PRÉ-OPERATÓRIA COM DIETA ENRIQUECIDA COM ARGININA, ÁCIDOS GRAXOS ÔMEGA-3, NUCLEOTÍDEOS E OLIGOELEMENTOS NA CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES COLÔNICAS EM RATOS: ESTUDO TENSIMÉTRICO E DA DENSITOMETRIA DO COLÁGENO.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Clínica Cirúrgica.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos L. Campos

Coordenador: Prof. Dr. Antonio Carlos L. Campos

**CURITIBA
2009**

OKAWA, Luciano

Influência da suplementação enteral pré-operatória com dieta enriquecida com arginina, ácidos graxos ômega-3, nucleotídeos e oligoelementos na cicatrização de anastomoses colônicas em ratos: estudo tensiométrico e da densitometria do colágeno / Luciano Okawa. Curitiba, 2009.

136 f.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos L. Campos

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica.

1. Imunonutrição. 2. Cicatrização de feridas. 3. Anastomose colônica. 4. Tensimetria. 5. Densitometria do colágeno. 6. Ratos
I. Título. II. Campos, Antonio Carlos



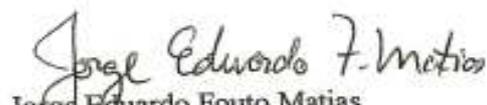
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CLÍNICA CIRÚRGICA
NÍVEIS: MESTRADO E DOUTORADO

Ata do julgamento da 339ª dissertação de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da Universidade Federal do Paraná, referente ao aluno **LUCIANO OKAWA** com o título INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO ENTERAL PRÉ-OPERATÓRIA COM DIETA ENRIQUECIDA COM ARGININA, ÁCIDOS GRAXOS ÔMEGA-3, NUCLEOTÍDEOS E OLIGOELEMENTOS NA CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES COLÔNICAS EM RATOS. ESTUDO TENSIO MÉTRICO E DA DENSITOMETRIA DO COLÁGENO, na Linha de Pesquisa: Cicatrização e Medidas de Resistência em Tecidos Área de Concentração: Nutrição e Cicatrização em cirurgia tendo como orientador Prof. Dr. Antonio Carlos L. Campos.

Às sete horas e trinta minutos do dia dezesseis de dezembro de dois mil e nove, no auditório do 7º andar do prédio central sala 701 do Hospital de Clínicas, reuniu-se, em sessão pública, a Banca Examinadora de Avaliação composta pelos Professores Doutores Maria Isabel T.D. Correia, Antonio Sérgio Brenner e Jorge Eduardo Fouto Matias sendo este último Presidente da Banca. Aberta a sessão, foi apresentada pelo Prof. Dr. Antonio Carlos L. Campos, Coordenador do Programa, a documentação probatória do cumprimento pelo candidato das exigências legais que lhe facultam submeter-se à avaliação da dissertação como última etapa à sua titulação no Programa. A seguir o Presidente da Banca Examinadora convidou o candidato a apresentar oralmente resumo de sua dissertação no prazo máximo de trinta minutos para demonstração de sua capacidade didática e para melhor conhecimento do tema por parte da audiência composta de professores, médicos, alunos, familiares e demais interessados. Seguiu-se a arguição e imediata resposta pelo candidato, sucessivamente pelos componentes da Banca Examinadora. Obedecido o tempo máximo de vinte minutos para a arguição e igual tempo para cada resposta. Terminada a etapa de arguição, reuniu-se a Banca Examinadora em sala reservada para atribuição das notas, dos conceitos e lavratura do Parecer Conjunto. O candidato foi considerado **APROVADO** considerando-se os parâmetros vigentes estabelecidos pelo programa e regidos pela legislação pertinente da instituição. Voltando à sala de sessão, o Senhor Presidente da Banca Examinadora leu os conceitos do Parecer Conjunto e deu por encerrada a sessão. E para que tudo conste, foi lavrada a presente Ata, que será assinada pelos seguintes componentes da Banca Examinadora de Avaliação.


Maria Isabel T.D. Correia


Antonio Sérgio Brenner


Jorge Eduardo Fouto Matias



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CLÍNICA CIRÚRGICA
NÍVEL MESTRADO - DOUTORADO

**PARECER CONJUNTO DA BANCA EXAMINADORA
DA AVALIAÇÃO DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

Aluno: **LUCIANO OKAWA**

Título da Dissertação: INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO ENTERAL PRÉ-OPERATÓRIA COM DIETA ENRIQUECIDA COM ARGININA, ÁCIDOS GRAXOS ÔMEGA-3, NUCLEOTÍDEOS E OLIGOELEMENTOS NA CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES COLÔNICAS EM RATOS. ESTUDO TENSIO MÉTRICO E DA DENSITOMETRIA DO COLÁGENO

CONCEITOS EMITIDOS:

Profa. Dra. Maria Isabel T.D. Correia	conceito	A	equivalência	9,5
Prof. Dr. Antonio Sérgio Brenner	conceito	A	equivalência	9,5
Prof. Dr. Jorge Eduardo Fouto Matias	conceito	A	equivalência	9,5

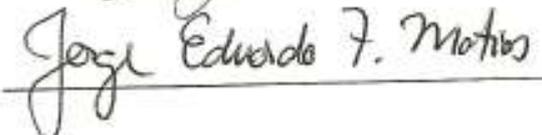
CONCEITO FINAL DE AVALIAÇÃO:

Conceito: A Equivalência: 9,5

Curitiba, 16 de dezembro de 2009.

Profa. Dra. Maria Isabel T.D. Correia 

Prof. Dr. Antonio Sérgio Brenner 

Prof. Dr. Jorge Eduardo Fouto Matias 

Aos meus pais, pelo incentivo e amor incondicional. Meus maiores exemplos de vida.

À minha querida esposa, pelo seu carinho, paciência e incentivo. Meu grande e verdadeiro amor.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Antônio Carlos L. Campos, professor titular do Departamento de Cirurgia e atual coordenador do Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da Universidade Federal do Paraná - UFPR, orientador desta dissertação, pela confiança, constante incentivo, dedicação e auxílio na realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Jorge Eduardo Fouto Matias, coordenador do Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica no início deste trabalho, preceptor da residência em Cirurgia do Aparelho Digestivo desta Instituição quando fui residente, pela confiança e pelos ensinamentos que muito contribuíram para minha formação médica e pessoal.

Ao Prof. Dr. Sérgio Ossamu Ioshii, meu orientador na iniciação científica, pelo exemplo de dedicação à causa da pesquisa e pela valiosa execução e análise dos exames histológicos.

À Dra. Alessandra Borges, amiga desde os tempos de residência em Cirurgia do Aparelho Digestivo, pelo apoio incondicional na realização deste trabalho, exemplo de força e determinação.

À amiga, colega de turma, colega de residência em Cirurgia Geral, Dra. Maria Cecília Closs Ono, pela fundamental ajuda durante todos os momentos deste trabalho.

Ao amigo Nicolas Galat Ahumada, que no início do trabalho era aluno da iniciação científica, e hoje é colega médico, residente em cirurgia geral nesta Instituição, pelo valioso auxílio em várias etapas deste trabalho.

À funcionária do Programa de Pós-Graduação Regina Aparecida Sass Marques, pela ajuda em diferentes fases desta dissertação.

À Universidade Federal do Paraná, pela oportunidade de realizar a graduação em medicina, as residências médicas em cirurgia geral e cirurgia do aparelho digestivo, e, agora, a pós-graduação em Clínica Cirúrgica.

À CAPES, pelo incentivo à pesquisa em nosso país.

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

Introdução: A utilização de vários nutrientes, com diferentes ações sobre o sistema imunológico e inflamatório, em fórmulas únicas de suporte nutricional, é chamada de imunonutrição. A suplementação com imunonutrientes mostra importantes resultados na modulação do sistema imune, com diminuição das complicações infecciosas e ocorrência de fístulas. Entretanto, poucos são os trabalhos que avaliaram as ações das dietas imunomoduladas sobre o processo de cicatrização, mediante métodos específicos. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da suplementação pré-operatória com dieta enteral imunomoduladora sobre a cicatrização de anastomoses colônicas em ratos eutróficos. **Material e método:** Foram utilizados 24 ratos Wistar, machos, adultos, randomizados em dois grupos: (PI) suplementação pré-operatória por 7 dias com dieta enteral enriquecida com arginina, ácidos graxos ômega-3, nucleotídeos e oligoelementos (zinco e selênio), n=12; (PC) suplementação pré-operatória por 7 dias com dieta enteral controle, isocalórica e isonitrogenada, n=12. Todos os ratos receberam água e ração *ad libitum* durante o período de estudo. A suplementação com as dietas enterais foi realizada por gavagem, após sedação. A quantidade de dieta em estudo foi calculada conforme o peso dos ratos, fornecendo 0,5g arginina/Kg peso/dia. Durante a cirurgia, foram realizadas duas anastomoses colônicas. No 5º PO, todos os ratos foram sacrificados. Foram analisados: evolução do peso; morbidade e mortalidade; avaliação tensiométrica da anastomose colônica; densitometria do colágeno da anastomose colônica. Análise estatística foi realizada por meio dos testes t de Student e Kruskal-Wallis, com nível de significância de $p < 0,05$. **Resultados:** Não foram observados processos infecciosos (abscessos abdominais ou peri-anastomóticos), deiscências ou óbitos. A evolução da média e do erro padrão dos pesos foi similar em todo período de estudo entre os grupos ($p > 0,05$). Entretanto, o ganho de peso durante o período de suplementação pré-operatória foi significativamente maior no grupo PI ($33,68 \pm 2,88g$) do que no grupo PC ($25,18 \pm 1,18g$), com $p=0,012$. O valor da força máxima de tração do grupo PI foi de $0,210 \pm 0,01$ Kgf, enquanto no grupo PC foi de $0,161 \pm 0,019$ Kgf, havendo diferença estatística entre os grupos ($p=0,03$). A média da área ocupada de colágeno total foi semelhante entre os grupos PI e PC ($8340,53 \pm 1392,85 \mu m^2$ e $7000,43 \pm 658,40 \mu m^2$, respectivamente; $p=0,39$). Porém, observou-se maior área de colágeno tipo I (maduro) no grupo PI ($4308,02 \mu m^2 \pm 571,92 \mu m^2$) que no grupo PC ($2342,68 \mu m^2 \pm 340,49 \mu m^2$), com $p=0,01$. Observou-se melhor índice IMaC no grupo PI em relação ao grupo PC ($1,49 \pm 0,27$ e $0,55 \pm 0,09$; $p=0,003$). **Conclusões:** a suplementação pré-operatória com dieta enteral enriquecida com arginina, ácidos graxos ômega-3, nucleotídeos e oligoelementos está associada ao aumento da força máxima de tração e ao aumento da quantidade de colágeno tipo 1 nas anastomoses colônicas no 5º PO de ratos nutridos.

DESCRITORES: Imunonutrição. Cicatrização de feridas. Anastomose colônica. Tensiometria. Densitometria do colágeno. Ratos.

ABSTRACT

Background: The utilization of several nutrients, with different actions on the immune and inflammatory system, in nutritional support formulas, is called immunonutrition. The supplementation with immunonutrients has been associated with significant results in the immune system modulation, with reduction of infectious complications and anastomotic leaks. However, few studies have evaluated the relationship between nutritional support with immune-modulating nutrients and wound healing, through specific methods. The objective of this study was to evaluate the influence of preoperative enteral supplementation with immunonutrients on the healing of colonic anastomosis, in nourished rats. **Material and method:** Twenty four male adult *Wistar* rats were randomized into two groups: (PI) preoperative supplementation for 7 days with enteral diet enriched with arginine, omega-3 fatty acids, nucleotides and trace elements (zinc and selenium), n = 12; (PC) preoperative supplementation for 7 days with isocaloric and isonitrogenous standard enteral diet, n = 12. All rats received water and food *ad libitum* during the study period. Supplementation with enteral diets was made through an orogastric tube, after sedation. In PI group, the amount of enriched diet was calculated using the weight of the mice, providing 0.5 g arginine/kg body weight/day. During surgery, two colonic anastomosis were made. In the 5th postoperative day, all rats were killed. We analyzed: weight evolution, morbidity and mortality, tensiometry of the colonic anastomosis; collagen densitometry of the colonic anastomosis. Statistical analysis was performed using the Student's *t* test and Kruskal-Wallis test, with significance level of $p < 0.05$. **Results:** There were no infectious processes, like abdominal or perianastomotic abscess, dehiscence or deaths. The evolution of the weights was similar throughout the study period between PI group and PC group ($p > 0.05$). However, weight gain during the preoperative supplementation period was significantly higher in PI (33.68 ± 2.88 g) than in PC (25.18 ± 1.18 g), with $p = 0.012$. The tensile strength of the colonic anastomosis was greater in the PI group (0.210 ± 0.01 kgf) than in the PC group (0.161 ± 0.019 Kgf), with statistical difference ($p = 0.03$). The average of total collagen were similar between the PI and PC groups ($8340.53 \pm 1392.85 \mu\text{m}^2$ and $7000.43 \pm 658.40 \mu\text{m}^2$; $p = 0.39$). However, there was more collagen type I (mature) area in PI group ($4308.02 \mu\text{m}^2 \pm 571.92 \mu\text{m}^2$) than in PC group ($2342.68 \mu\text{m}^2 \pm 340.49 \mu\text{m}^2$), with $p = 0.01$. There was better IMAc index in group PI compared to PC group ($1,49 \pm 0,27$ e $0,55 \pm 0,09$; $p = 0,003$). **Conclusions:** preoperative supplementation with enteral diet enriched with arginine, omega-3 fatty acids, nucleotides and trace elements is associated with increased tensile strength and collagen type I deposition in the colonic anastomosis of nourished rats, in the 5th postoperative day.

KEY-WORDS: Immunonutrition. Wound Healing. Colonic anastomosis. Tensiometry. Collagen densitometry. Rats.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	SÍNTESE E DEGRADAÇÃO DO COLÁGENO NA CICATRIZAÇÃO	30
FIGURA 2 -	METABOLISMO DA ARGININA	47
FIGURA 3 -	MÉTODO UTILIZADO PARA GAVAGEM DOS ANIMAIS COM AS DIETAS ENTERAIS	78
FIGURA 4 -	ANASTOMOSES COLÔNICAS – PROXIMAL E DISTAL	80
FIGURA 5 -	ISOLAMENTO DAS ANASTOMOSES COLÔNICAS, APÓS MORTE DO ANIMAL	81
FIGURA 6 -	ANASTOMOSE COLÔNICA PROXIMAL RESSECADA E CONSERVADA EM SORO FISIOLÓGICO (CORPO DE PROVA)	82
FIGURA 7 -	ANASTOMOSE COLÔNICA DISTAL SECCIONADA E ESTENDIDA SOBRE PAPEL FILTRO	83
FIGURA 8 -	EQUIPAMENTO UNIVERSAL DE ENSAIO MECÂNICO COMPUTADORIZADO EMIC [®] , MODELO DL500MF	84
FIGURA 9 -	TESTE DE TRAÇÃO DE ANASTOMOSE COLÔNICA DE RATO	84
FIGURA 10 -	FOTOMICROGRAFIA DE REGIÃO ANASTOMÓTICA CORADA COM PICROSIRIUS-RED F3BA (400X)	86
FIGURA 11 -	DENSITOMETRIA DO COLÁGENO – IMAGEM DIGITALIZADA PELO SOFTWARE IMAGE PRO-PLUS (MEDIA CYBERNETICS) ...	87

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 - COMPOSIÇÃO DA RAÇÃO ESPÉCIE-ESPECÍFICA PARA RATOS NUVILAB-CR1®	72
QUADRO 2 - ÍNDICE DE MATURAÇÃO DO COLÁGENO	87

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 - EVOLUÇÃO DOS PESOS DOS ANIMAIS DOS GRUPOS PI E PC DURANTE TODO O PERÍODO DO ESTUDO	91
GRÁFICO 2 - MÉDIA E ERRO PADRÃO DO GANHO DE PESO DURANTE O PERÍODO DE SUPLEMENTAÇÃO PRÉ-OPERATÓRIA DOS GRUPOS PI E PC	93
GRÁFICO 3 - MÉDIA E ERRO PADRÃO DA PERDA DE PESO DURANTE O PERÍODO PÓS-OPERATÓRIO DOS GRUPOS PI E PC ...	94
GRÁFICO 4 - MÉDIA E ERRO PADRÃO DE ÁREA OCUPADA DE COLÁGENO TOTAL NOS GRUPOS PI E PC	96
GRÁFICO 5 - MÉDIA E ERRO PADRÃO DE IMaC DOS GRUPOS PI E PC	97

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 -	COMPOSIÇÃO DAS DIETAS ENTERAIS INDUSTRIALIZADAS ADMINISTRADAS.....	74
TABELA 2 -	MÉDIA DOS PESOS DOS GRUPOS PI E PC NO ÍNICIO DO ESTUDO, DIA DA CIRURGIA E DIA DO SACRIFÍCIO	92
TABELA 3 -	MÉDIA E ERRO PADRÃO DAS VARIÁVEIS DE FORÇA MÁXIMA DE TRAÇÃO E FORÇA DE RUPTURA TOTAL ENTRE OS GRUPOS PI E PC	95
TABELA 4 -	MÉDIA E ERRO PADRÃO DE ÁREA OCUPADA DE COLÁGENO MADURO E IMATURO DOS GRUPOS PI E PC	96

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

CP	- Corpo de prova
CX	- Dia da cirurgia
cm	- Centímetro
cm ²	- Centímetro quadrado
cm ³	- Centímetro cúbico
CO ₂	- Dióxido de Carbono
D0	- Dia de início do estudo
DNA	- Ácido Desoxirribonucléico
EP	- Erro padrão
EPM	- Erro padrão da média
<i>et al.</i>	- e colaboradores
FMT	- Força Máxima de Tração
FRT	- Força de Ruptura Total
g	- Grama
HE	- Hematoxilina-Eosina
hGH	- Hormônio de Crescimento
IGF-1	- Fator de crescimento insulina símile
IMaC	- Índice de maturação do Colágeno
Kcal	- Kilocalorias
Kg	- Kilograma
Kgf	- Kilograma-força
M	- Média
mg	- Miligrama
mm	- Milímetro
mM	- Milimolar
µm	- Micrômetro
µm ²	- Micrômetro quadrado
n	- Tamanho da amostra
NO	- Óxido Nítrico
NOi	- Óxido Nítrico Sintetase

p	- Nível de significância estatística
PC	- Grupo submetido à suplementação pré-operatória com a dieta enteral controle
PI	- Grupo submetido à suplementação pré-operatória com a dieta enteral enriquecida
PO	- Pós-operatório
RGB	- <i>Red, green, blue</i>
SIRS	- Síndrome da resposta inflamatória sistêmica
SSI	- Solução salina isotônica
SX	- Dia da morte dos animais
vs.	- Versus
° C	- Graus Celsius
=	- Igual a
±	- Mais ou menos
®	- Marca registrada
<	- Menor que
>	- Maior que
%	- Porcentagem
γ	- Gama
ω	- Ômega

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
1.1 OBJETIVOS.....	21
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	22
2.1 CICATRIZAÇÃO	23
2.1.1 Fase inflamatória	23
2.1.2 Fase proliferativa/granulação	24
2.1.3 Fase de maturação/remodelamento.....	25
2.1.4 Importância do colágeno	26
2.1.5 Cicatrização de anastomoses colônicas.....	27
2.2 AVALIAÇÃO DA CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES COLÔNICAS.....	31
2.2.1 Avaliação mecânica	32
2.2.2 Avaliação histológica e densitometria do colágeno	34
2.3 NUTRIÇÃO E CICATRIZAÇÃO.....	36
2.3.1 Terapia nutricional e cicatrização.....	39
2.4 IMUNONUTRIÇÃO	43
2.4.1 Glutamina.....	44
2.4.2 Arginina	46
2.4.3 Ácidos graxos ômega-3.....	52
2.4.4 Nucleotídeos.....	54
2.4.5 Zinco	55
2.4.6 Selênio	57
2.5 IMUNONUTRIÇÃO EM SITUAÇÕES CRÍTICAS.....	59
2.6 IMUNONUTRIÇÃO E CIRURGIA.....	61
2.7 IMUNONUTRIÇÃO E CICATRIZAÇÃO	68
3 MATERIAL E MÉTODO	70
3.1 ANIMAIS.....	71
3.2 RAÇÃO.....	72
3.3 DIETAS ENTERAIS.....	72

3.3.1 Dieta enteral enriquecida	73
3.3.2 Dieta enteral padrão.....	73
3.4 CONSIDERAÇÕES AMBIENTAIS.....	75
3.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	75
3.5.1 Grupos de pesquisa	75
3.5.2 Delineamento da pesquisa.....	76
3.6 MORBIDADE E MORTALIDADE	77
3.7 CONTROLE DO PESO.....	77
3.8 GAVAGEM.....	77
3.9 ANESTESIA.....	79
3.10 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO	79
3.11 SACRIFÍCIO DOS ANIMAIS.....	81
3.12 AVALIAÇÃO TENSIMÉTRICA	83
3.13 DENSITOMETRIA DO COLÁGENO	85
3.14 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	88
4 RESULTADOS	89
4.1 MORBIDADE E MORTALIDADE	90
4.2 SUPLEMENTAÇÃO ENTERAL.....	90
4.3 PESO.....	91
4.4 AVALIAÇÃO TENSIMÉTRICA.....	94
4.5 DENSITOMETRIA DO COLÁGENO.....	95
5 DISCUSSÃO	98
5.1 DO MATERIAL E MÉTODO.....	99
5.2 DA SUPLEMENTAÇÃO ENTERAL ENRIQUECIDA COM IMUNONUTRIENTES.....	102
5.3 DOS RESULTADOS	103
5.3.1 Morbidade e mortalidade.....	103
5.3.2 Peso.....	104
5.3.3 Avaliação tensiométrica.....	105
5.3.4 Densitometria do colágeno	107
5.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS.....	108
6 CONCLUSÕES	110

REFERÊNCIAS	112
ANEXOS	135

1 INTRODUÇÃO

A cicatrização é processo comum a todas as feridas. É um processo sistêmico e dinâmico, e está diretamente relacionado às condições gerais do organismo. Consiste em perfeita e coordenada cascata de eventos celulares, moleculares e bioquímicos, que interagem para que ocorra a reconstituição tecidual. Necessita de um conjunto de condições que incluem sistema imunológico e fibroblástico eficientes, boa perfusão tecidual, ausência de debris, e, em pacientes cirúrgicos, adequada técnica cirúrgica (PHILLIPS, 2000; MOREIRA, 2000).

Diversos são os fatores que podem influenciar, positiva ou negativamente, o processo de reparo tecidual. Estado nutricional adequado é fator importante para alcançar processo de cicatrização ótimo, pois a dinâmica tecidual exige energia e substratos plásticos provenientes de macro e micronutrientes (ROBERTS *et al.*, 1998).

A intensidade do reparo da ferida guarda relação direta com as necessidades de macro e micronutrientes. A deficiência de proteína, potencialmente presente nas condições de trauma, como queimadura, politraumatismo, grande cirurgia e contusão grave, prejudica o processo de cicatrização, favorecendo maior risco de infecções (PEACOCK, 1960; MODOLIN *et al.*, 1982, 1984).

Na prática clínica, a oferta de nutrientes pode ocorrer por via oral, enteral e parenteral. Nos últimos anos, houve importante desenvolvimento de formulações nutricionais especializadas para atender necessidades particulares de órgãos e sistemas, disponíveis sob a forma de suplementos. Dentre elas, encontram-se fórmulas hiperprotéicas, enriquecidas com glutamina, arginina e nutrientes antioxidantes, desenhadas para atender as necessidades decorrentes do processo cicatricial e otimizar o seu desenvolvimento (DESNEVES *et al.*, 2005).

Como as complexas interações entre nutrição, função da barreira mucosa e imunorregulação se tornam cada vez mais claras, há esperança de que formas específicas de terapia nutricional possam trazer benefícios a determinados estados de doença específica. Muitas fórmulas contêm nutrientes anteriormente

considerados não essenciais, mas que, em condições de doença grave, tornam-se "condicionalmente essenciais". Exemplos destes nutrientes são a glutamina, a arginina, os nucleotídeos (como o RNA), os ácidos graxos ômega-3 (ω -3) e alguns oligoelementos, como o zinco e o selênio. O uso de fórmulas enterais suplementadas com esses componentes é referido como imunonutrição.

Atualmente, a terapia nutricional pretende, ao lado de fornecer energia e substratos nutricionais, influenciar de maneira farmacológica funções orgânicas prejudicadas pelo estado patológico do paciente, particularmente, quando imunossupressão e/ou hiper-inflamação estão presentes. Nessas condições, a oferta enteral ou parenteral de nutrientes com funções imunomoduladoras se associa a importantes benefícios, como aumento da celularidade e promoção de funções imunológicas (SUCHNER; KUHN; FURST, 2000).

A suplementação nutricional com fórmulas ditas imunomoduladas mostra importantes resultados na modulação do sistema imune em pacientes críticos (WU; ZHANG; WU, 2001; BRAGA *et al.*, 2002b). Estudos clínicos mostram importante diminuição das taxas de infecção e do tempo de ventilação mecânica, de unidade de terapia intensiva e de internação hospitalar com a utilização de dietas imuno-enriquecidas (HEYS *et al.*, 1999; BEALE; BRYG; BIHARI, 1999; MONTEJO *et al.*, 2003).

Em pacientes cirúrgicos, principalmente nos casos de câncer do trato digestivo, a terapia nutricional com dietas imunomoduladas está associada à redução das complicações infecciosas pós-operatórias, fístulas anastomóticas e tempo de internação, com diminuição também dos custos de hospitalização (SENKAL *et al.*, 1997; HEYS *et al.*, 1999; WAITZBERG *et al.*, 2006).

Entretanto, estudo clínico recente não mostrou diferenças significativas em relação a complicações pós-operatórias, tempo de internação e mortalidade com a utilização de fórmula enteral enriquecida com arginina, ácidos graxos ω -3 e nucleotídeos em pacientes submetidos a cirurgias de grande porte no trato gastrointestinal (HELMINEN; RAITANEN; KELLOSALO, 2007).

Jones e Heyland (2008), em trabalho de revisão, questionaram a utilização da imunonutrição em pacientes críticos, já que diversos trabalhos com resultados positivos apresentam falhas metodológicas relevantes.

Os efeitos da suplementação enteral com imunonutrientes, especialmente arginina, ácidos graxos ω -3 e nucleotídeos, no processo de cicatrização de feridas ainda não foram amplamente estudados. Indícios de melhora neste processo foram demonstrados por Senkal *et al.* (1997) e Waitzberg *et al.* (2006), mediante observação da redução do número de fístulas nos pacientes que utilizaram dietas imunomoduladas.

Poucos são os trabalhos que avaliaram as ações das dietas imunomoduladas sobre o processo de cicatrização por meio de métodos específicos. Ferreras *et al.* (2005) observaram que a utilização de fórmula enteral suplementada com arginina, ácidos graxos ω -3 e nucleotídeos no pós-operatório precoce de cirurgia por câncer gástrico aumenta a síntese de hidroxiprolina e melhora a cicatrização da ferida cirúrgica.

Os efeitos de nutrição enteral suplementada com arginina e antioxidantes sobre o processo de cicatrização de feridas cutâneas, em termos de avaliação morfo-estrutural, bioquímica e biologia molecular, foram avaliados por Pereira (2006), em estudo experimental. Os melhores resultados foram alcançados nos ratos que receberam suplementação com arginina e antioxidantes.

Apesar de existirem indícios de melhora do processo de cicatrização com a utilização de fórmulas imunomoduladas, os trabalhos que mostraram esta relação por meio de métodos específicos são escassos. Assim, há a necessidade de novos estudos, que avaliem os efeitos da suplementação imunomodulada sobre o reparo tecidual mediante método adequado.

1.1 OBJETIVOS

Avaliar a influência da suplementação pré-operatória com dieta enteral imunomoduladora, enriquecida com arginina, ácidos graxos ômega-3, nucleotídeos e oligoelementos sobre a cicatrização de anastomoses colônicas em ratos, por meio de:

- a) Avaliação tensiométrica das anastomoses colônicas;
- b) Densitometria do colágeno das anastomoses colônicas;
- c) Morbidade e mortalidade pós-operatórias.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 CICATRIZAÇÃO

O processo cicatricial é comum a todas as feridas, independentemente do agente que a causou. É um processo sistêmico e dinâmico e está diretamente relacionado às condições gerais do organismo.

A cicatrização de feridas consiste em perfeita e coordenada cascata de eventos celulares, moleculares e bioquímicos que interagem para que ocorra a reconstituição tecidual.

Em 1910, Carrel descreveu os mecanismos cicatriciais em seqüência ordenada de eventos, que foram divididos por Orgill e Demling (1988) em cinco fases principais: inflamação, proliferação celular, formação do tecido de granulação, contração e remodelamento da ferida. Recentemente, Clark (2005) reclassificou esse processo em três fases divididas, didaticamente, em: fase inflamatória, fase de proliferação ou de granulação, fase de remodelamento ou de maturação.

2.1.1 Fase inflamatória

A fase inflamatória se inicia imediatamente após a lesão tecidual, com liberação de substâncias vasoconstritoras, principalmente tromboxana A₂ e prostaglandinas, pelas membranas celulares. O endotélio lesado e as plaquetas estimulam a cascata da coagulação. Visando a hemostasia, a cascata da coagulação é iniciada e grânulos são liberados das plaquetas, as quais contêm fator

de crescimento de transformação beta (TGF- β), fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), fator de crescimento derivado dos fibroblastos (FGF), fator de crescimento epidérmico (EGF), prostaglandinas e tromboxanas. O coágulo é formado por colágeno, plaquetas e trombina, que servem de reservatório protéico para a síntese de citocinas e fatores de crescimento, aumentando seus efeitos. Desta forma, a resposta inflamatória se inicia com vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular, promovendo a migração de neutrófilos para a ferida (BROUGHTON; JANIS; ATTINGER, 2006a; WITTE; BARBUL, 1997). Estas são as primeiras células a chegar à ferida, com maior concentração 24 horas após a lesão. Aderem-se à parede do endotélio, mediante ligação com as selectinas (receptores de membrana), e produzem radicais livres que auxiliam na destruição bacteriana. Gradativamente são substituídos por macrófagos (BROUGHTON; JANIS; ATTINGER, 2006b).

Os macrófagos são as principais células antes dos fibroblastos migrarem e iniciarem a replicação. Têm papel fundamental no término do desbridamento iniciado pelos neutrófilos e sua maior contribuição é a secreção de citocinas e fatores de crescimento, além de contribuírem na angiogênese, fibroplasia e síntese de matriz extracelular, fundamentais para a transição para a fase proliferativa (BROUGHTON; JANIS; ATTINGER, 2006a).

2.1.2 Fase proliferativa/granulação

A fase proliferativa é constituída por quatro etapas fundamentais: epitelização, angiogênese, formação de tecido de granulação e deposição de colágeno. Tem início ao redor do 4º dia após a lesão e se estende aproximadamente até o término da segunda semana.

A epitelização ocorre precocemente. Se a membrana basal estiver intacta, as células epiteliais migram em direção superior, e as camadas normais da epiderme

são restauradas em três dias. Se a membrana basal for lesada, as células epiteliais das bordas da ferida começam a proliferar na tentativa de restabelecer a barreira protetora (LAWRENCE; DIEGELMANN, 1994).

A angiogênese é essencial para a cicatrização adequada. É estimulada pelo fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), e caracteriza-se pela migração de células endoteliais e formação de capilares.

A etapa final da fase proliferativa é a formação de tecido de granulação. Os fibroblastos e as células endoteliais são as principais células da fase proliferativa. Os fibroblastos dos tecidos vizinhos migram para a ferida, porém precisam ser ativados para sair do estado de quiescência. O fator de crescimento mais importante na proliferação e ativação dos fibroblastos é o PDGF (BROUGHTON; JANIS; ATTINGER, 2006a). Em seguida é liberado o TGF- β , que estimula os fibroblastos a produzirem colágeno tipo I. Os fibroblastos se transformam em miofibroblastos, que promovem a contração da ferida (WITTE; BARBUL, 1997).

2.1.3 Fase de maturação/remodelamento

A formação e depósito de colágeno são as principais características desta fase. O colágeno produzido inicialmente é mais fino do que o colágeno presente na pele normal, e tem orientação paralela à pele. Com o tempo, o colágeno inicial (colágeno tipo III) é reabsorvido e um colágeno mais espesso (tipo I) é produzido e organizado ao longo das linhas de tensão. Estas mudanças se refletem em aumento da força tênsil da ferida. A reorganização da nova matriz é processo importante da cicatrização. Fibroblastos e leucócitos secretam collagenases que promovem a lise da matriz antiga. A cicatrização tem sucesso quando há equilíbrio entre a síntese da nova matriz e a lise da matriz antiga, havendo sucesso quando a deposição é maior. Mesmo após um ano, a ferida apresentará um colágeno menos organizado do que o

da pele são, e a força tênsil jamais retornará completamente, atingindo em torno de 80% após três meses (BROUGHTON; JANIS; ATTINGER, 2006b).

2.1.4 Importância do colágeno

O colágeno é a proteína mais abundante do tecido conjuntivo. As várias diferenças na composição química do colágeno determinam suas funções biológicas. Foram descritas até o presente 19 isoformas (tipos) de colágeno, codificadas por um único gene. Os tipos de fibras colágenas do tecido conjuntivo são helicoidais, com seqüência tripeptídica repetitiva composta de glicina-X-Y, sendo X representado pela prolina e Y pela hidroxiprolina. É necessária grande presença de glicina e prolina para que uma molécula madura de colágeno assuma a estrutura de tripla hélice (ROBSON; STEED; FRANZ, 2001).

O colágeno tipo I, mais freqüente, é sintetizado pelos fibroblastos, sendo predominante em ossos e tendões. O tipo III é mais comumente encontrado em tecidos moles, como vasos sangüíneos, derme e fáscia. A derme são contém aproximadamente 80% de colágeno tipo I e 20 % de colágeno tipo III. Já o tecido de granulação expressa 30 a 40 % de colágeno do tipo III, sendo considerado colágeno imaturo (ROBSON; STEED; FRANZ, 2001).

A degradação do colágeno se inicia precocemente e é muito ativa durante o processo inflamatório. A digestão do colágeno ocorre em ambiente extracelular e é mediada por collagenases específicas. São conhecidos quatro tipos de collagenases: as séricas (elastase, catepsina C e proteinase neutra) e as metaloproteinases. A atividade das collagenases é controlada por citocinas liberadas principalmente por células inflamatórias, endoteliais, fibroblastos e queratinócitos. A formação da matriz extracelular é, pois, resultante de balanço entre a deposição (síntese) e degradação de colágeno (CAMPOS; GROTH; BRANCO, 2008).

2.1.5 Cicatrização de anastomoses colônicas

A resposta inflamatória nas anastomoses é rápida. Os mediadores quimiotáticos atraem neutrófilos, que se acumulam na área anastomótica três horas após a sua realização, e aumentam a proporção de monócitos a partir de 12 horas pós-operatórias (HESP *et al.*, 1985). Os agentes vasoativos contribuem para o edema anastomótico, que persiste nos primeiros sete dias pós-operatórios (GETZEN; HOLLOWAY, 1966).

Vários tipos celulares aumentam sua concentração na área anastomótica durante a proliferação celular. Evidencia-se neovascularização entre o segundo e terceiro dia pós-operatório (WISE *et al.*, 1975). Os fibroblastos atingem a região da anastomose, nas primeiras 12 horas após a cirurgia, multiplicando-se no local (HESP *et al.*, 1985).

Os eventos cicatriciais sobre a anastomose afetam toda a estrutura laminar do cólon. Cada camada da parede colônica exhibe características próprias e sofre alterações em diferentes intensidades. A aproximação das bordas da anastomose afeta a velocidade do reparo epitelial (THORNTON; BARBUL, 1997).

A submucosa mantém a taxa metabólica mais elevada da parede colônica na área da cicatrização anastomótica. Halsted, em 1887, provou a importância dessa camada ao incluí-la sob os pontos da anastomose. É na submucosa que se distribui a maior parte do colágeno colônico produzido, fundamental na manutenção da integridade intestinal durante a cicatrização anastomótica (HESP *et al.*, 1985).

MORI *et al.* (1992) demonstraram que a reconstituição da camada muscular depende da diferenciação de células musculares lisas a partir de células mesenquimais indiferenciadas, as quais invadem a região entre o terceiro e quinto dia após o ferimento. As primeiras, aliadas aos fibroblastos locais, são as responsáveis pela produção da totalidade do colágeno cicatricial intestinal (GRAHAM *et al.*, 1987).

A importância do peritônio visceral no processo de cicatrização foi evidenciada no estudo de Goligher, Graham e Dombal (1970). Os autores provaram que estruturas extra-peritoneais (desprovidas de serosa) estavam mais sujeitas a fístulas.

O colágeno é o principal componente da matriz extracelular dos tecidos. Estrutura-se numa rede densa e dinâmica resultante da constante deposição e reabsorção. A quantidade de colágeno modifica-se no cólon durante o pós-operatório de anastomoses colônicas, principalmente na região peri-anastomótica (JIBORN; AHONEN; ZEDERFELDT, 1980). Essa variação é resultado da interação entre síntese, fixação e degradação no tecido cicatricial (NIMNI; DEGUIA; BAVETTA, 1967).

As enzimas colagenases quebram o colágeno, atuando mais intensamente no início da cicatrização da anastomose. Após o terceiro dia do processo cicatricial, a atividade colagenolítica diminui, aumentando a quantidade absoluta de colágeno na região cicatricial (CHOWCAT *et al.*, 1970).

Cronin, Jackson e Dumphy (1968) demonstraram que os níveis absolutos de colágeno em anastomoses colônicas de ratos permanecem baixos até o 5º PO, ocorrendo aumento progressivo da sua quantidade até atingir valores quase normais em torno do 10º PO. Irvin e Hunt (1974a) utilizando radioisótopos confirmaram os achados de Cronin, Jackson e Dumphy (1968), mas observaram que as alterações na concentração do colágeno ocorriam em proporções menos intensas devido à formação de edema na região anastomótica. Segundo Irvin e Hunt (1974a), o conteúdo de colágeno peri-anastomótico permanece constante durante os três primeiros dias pós-operatórios, com aumento significativo após esse período e alcançando valores máximos no 7º PO.

Jiborn, Ahonen e Zederfeldt (1980) avaliaram o metabolismo de colágeno em anastomoses do cólon esquerdo de ratos. Demonstraram que, em estágios precoces após a anastomose (4º PO), a lise predominava, embora a atividade sintética também estivesse aumentada. Entre o 4º e 7º PO, a síntese começava a superar a degradação, até que no 7º PO esse balanço tornava-se favorável à deposição de colágeno no tecido cicatricial.

Três subtipos de colágeno (I, III e V) são identificados durante o processo cicatricial do cólon. Os colágenos I e III atingem proporções mais significativas e a relação entre eles têm importância maior no estudo da cicatrização anastomótica.

Braskén, Renvall e Sandberg (1991) utilizaram marcadores monoclonais e observaram queda na concentração de colágeno III e I anastomóticos, com níveis mínimos no 1º e 2º PO respectivamente. Ambos os subtipos de colágeno acumularam-se a partir do 3º PO, atingindo níveis máximos no 7º PO e permanecendo elevados até o 14º PO.

Essas alterações histológicas da anastomose acompanham as modificações das propriedades mecânicas do tecido cicatricial. Herrmann, Woodward e Pulanski (1964) sugeriram que as alterações histológicas da cicatrização eram as responsáveis pela força da anastomose e identificaram três diferentes fases:

- 1) Fase Lag (quiescência): predominância de edema e inflamação, ocorrendo entre o dia da cirurgia e o 4º PO, momento em que a força da ferida é dependente do reforço artificial das suturas;
- 2) Fase Logarítmica (fibroplasia): proliferação de fibroblastos com rápido ganho de força da anastomose, ocorrendo entre 3 e 14 dias;
- 3) Fase Estacionária (maturação): remodelamento das fibras de colágeno, com menor ganho de força que se inicia em torno do 10º PO.

Evidências mais recentes associaram as alterações da rede de colágeno como as principais responsáveis pelas modificações mecânicas das anastomoses intestinais (KHOURY; WAXMAN, 1983; JONSSON; JIBORN; ZEDERFELDT, 1983, 1985 e 1987).

As anastomoses colônicas perdem 72% a 95% da força tecidual original, durante os três primeiros dias do processo cicatricial, quando há atividade mais intensa da colagenase (HÖGSTRÖN; HAGLUND; ZEDERFELDT, 1985; JIBORN; AHONEN; ZEDERFELDT, 1980). Após esse período inicial de déficit mecânico, ocorre ganho de força anastomótica acompanhada de progressiva deposição de colágeno na área cicatricial.

Entretanto, as características qualitativas do colágeno depositado são mais importantes para o suporte estrutural da anastomose do que sua concentração tecidual (HENDRIKS; MASTBOOM, 1990). LEVENSON *et al.* (1965) verificaram que medidas da quantidade total de colágeno não se correlacionavam bem com as mudanças de força tênsil da ferida em cicatrização.

O aumento de força tênsil é mais relacionado com o colágeno I do que com o colágeno III. Doillon *et al.* (1985) evidenciaram que a deposição e o remodelamento das fibras de colágeno I são os principais determinantes do ganho de força da área cicatrizada, exercendo influência sobre a integridade anastomótica (Figura 1).

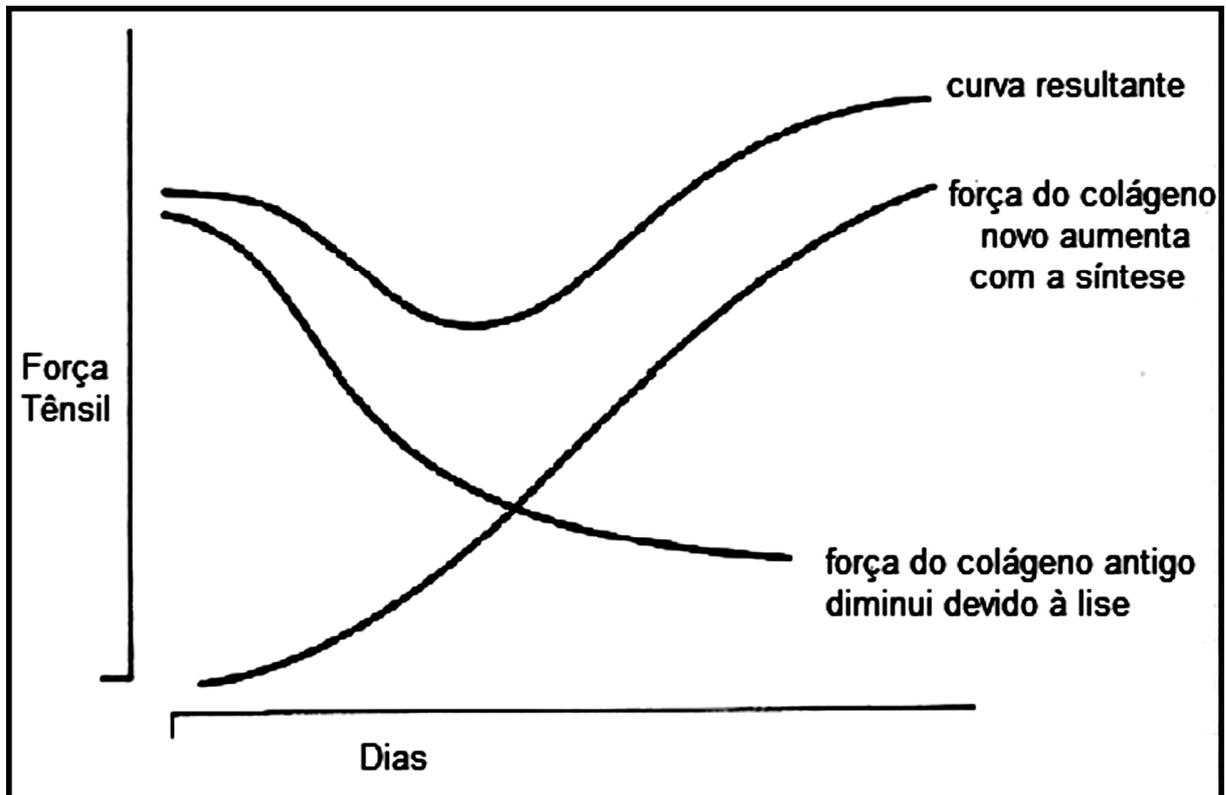


FIGURA 1 – SÍNTESE E DEGRADAÇÃO DO COLÁGENO NA CICATRIZAÇÃO

FONTE – TRUBIAN (2008)

Jonsson, Jiborn e Zederfeldt (1983), assim como Hendriks e Mastboom (1990), estabeleceram a correlação clínica dessas evidências. Verificaram que havia um período mais vulnerável para deiscência anastomótica (entre 4º e 7º PO), que

correspondia aos momentos de déficit mecânico e de baixa qualidade de colágeno depositado na anastomose.

2.2 AVALIAÇÃO DA CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES COLÔNICAS

As anastomoses intestinais podem ser avaliadas mediante parâmetros clínicos, mecânicos, histopatológicos e bioquímicos. Outros métodos, menos comumente utilizados, são os parâmetros microbiológicos, radiográficos, microangiográficos e de microscopia eletrônica (VIZZOTTO *et al.*, 2003; COSTA *et al.*, 2003; BONIN *et al.*, 2005; CAMPOS; GROTH; BRANCO, 2008).

Em modelos animais, parâmetros clínicos levam em conta a evolução pós-operatória e os achados intra-abdominais após a morte, seja ela em meio à fase de experimentação ou provocada no término desta para coleta de dados. Eles indicam o sucesso ou insucesso da anastomose e refletem a presença de deiscência anastomótica o que, em última análise, procura-se avaliar nos experimentos em cicatrização de anastomoses colônicas.

Os dados evolutivos mais comumente explorados são: ganho ou perda de peso e a evolução pós-operatória (óbitos). À exploração da cavidade abdominal, os dados mais freqüentemente avaliados são: quantificação e qualificação de aderências pós-operatórias e possíveis complicações anastomóticas (deiscência, abscesso peri-anastomótico e estenose), entre outros.

2.2.1 Avaliação mecânica

As forças mecânicas envolvidas nas anastomoses refletem, de forma objetiva, a integridade da mesma (KORUDA; ROLANDELLI, 1990). Essas variáveis podem ser determinadas de diferentes formas. A avaliação da força tênsil da anastomose é freqüentemente utilizada em estudos experimentais, com resultados que refletem com elevada precisão as propriedades biofísicas do tecido.

Em 1853, Paget, citado por Ballantyne (1983), introduziu a medida de força tênsil de tecidos ao seccionar e reparar cirurgicamente tendões de coelhos. Mediante tecnologia rudimentar observou que o segmento reparado ganhava força ao longo do período pós-operatório. Os primeiros estudos de força tênsil em anastomoses intestinais foram realizados em 1899 por Chlumsky, citado por Ballantyne (1983), que abandonou esse método em função da baixa sensibilidade.

Howes, Sooy e Harvey (1929) renovaram o interesse pelo método ao sistematizarem a técnica de medida da força tênsil por meio de dispositivo mecânico (tensiômetro) que apresentava resultados reprodutíveis. Esse instrumento foi descrito por Fast, Nelson e Dennis (1947), sofrendo aprimoramentos durante as últimas décadas.

Por meio dos estudos de Howes, Sooy e Harvey (1929) conseguiu-se estabelecer relação entre o ganho de força e o evento de fibroplasia da cicatrização. Este período (fibroplasia) se inicia após o 4º dia pós-operatório da anastomose colônica em ratos (IKEUCHI *et al.*, 1999), quando há menor influência dos materiais de sutura na força tênsil do tecido avaliado. Da mesma forma, evidenciou-se que o tipo de sutura tinha pouca interferência nos resultados da força tênsil da anastomose nesse momento da cicatrização (BALLANTYNE, 1983).

Jonsson, Jiborn e Zederfeldt (1983) associaram um componente eletrônico, fornecendo maior sensibilidade ao sistema. Adotaram o método de força de tração, no qual o aparelho tracionava o corpo de prova (anastomose centrada num segmento de intestino excisado) a partir de uma das extremidades, deixando a outra fixa até que ocorresse a ruptura da peça cirúrgica. Blomquist, Jiborn e Zederfeldt

(1984) estabeleceram a importância do aumento de força de forma contínua na avaliação dos resultados. Naresse *et al.* (1987) utilizaram o equipamento evidenciando que o mesmo apresentava erros mínimos de leitura, recomendando sua utilização em investigações experimentais de cicatrização intestinal e de outras feridas cirúrgicas. Nos últimos anos, os tensiômetros foram informatizados e a indústria disponibilizou vários modelos, facilitando o emprego desse método.

Van Winkle (1969) definiu dois tipos de força para a avaliação mecânica de uma ferida: Tensão (quantificação da carga aplicada para rompê-la, considerando a dimensão do tecido analisado) e Força de Ruptura (força necessária para rompê-la).

Ikeuchi *et al.* (1999) testaram outro método de avaliação mecânica de anastomoses: a Pressão de Ruptura. Verificaram a imprecisão desta variável na avaliação de anastomoses em fases precoces da cicatrização, sem encontrar correlação da mesma com a força de ruptura. Outros estudos também mostraram vantagens na avaliação da força tênsil com a utilização da força de ruptura que, diferentemente da pressão de ruptura, correlaciona-se estreitamente com a deposição de colágeno a partir do 4º PO de anastomoses intestinais (JIBORN; AHONEN; ZENDERFELDT, 1978; BRASKEN, 1991).

As forças mecânicas envolvidas na anastomose podem ser avaliadas por meio de uma tira de tecido correspondendo a amostra do segmento contendo parte da anastomose no centro (NARESSE; LUCCHIARI; KOBAYASI, 1988; NARESSE *et al.*, 1988), ou por meio da análise da anastomose na alça intestinal íntegra (LEITE *et al.*, 1993; NARESSE *et al.*, 1993).

Herrmann, Woodward e Pulanski (1964) realizaram estudo sobre a cicatrização de anastomoses colônicas de ratos. Dividiram uma amostra de 220 animais e mediram a força tênsil de anastomoses colônicas em diversos períodos de tempo compreendidos entre 3h e um ano após o procedimento cirúrgico. Evidenciaram que entre três e 14 dias havia o maior ganho de força tênsil da anastomose, constituindo-se no melhor período para estudar os parâmetros biofísicos da cicatrização do cólon anastomosado de ratos.

2.2.2 Avaliação histológica e densitometria do colágeno

A microscopia ótica é um método de avaliação do processo de cicatrização de anastomoses intestinais muito utilizado em estudos clínicos e experimentais. Entretanto, a real importância deste método é questionada devido à subjetividade (CAMPOS; GROTH; BRANCO, 2008).

O processo de reparação tecidual pode ser avaliado mediante técnica de coloração com hematoxilina-eosina (HE), utilizando diversos indicadores, tais como: exsudato neutrofílico, edema intersticial, necrose de mucosa, necrose transmural, deposição de fibrina, congestão vascular, infiltrado monomorfonuclear, atividade regenerativa da mucosa, proliferação fibroblástica, neoformação vascular, processo granulomatoso e fibrose intersticial (CAMPOS; GROTH; BRANCO, 2008).

Outro método histológico de grande utilidade, principalmente na avaliação e diferenciação de tipos de colágeno, é o da polarização com Picrosirius. Sweat, Puchtler e Rosenthal (1964) adotaram o uso do Sirius-red F3BA (SRF) como corante alternativo na identificação do colágeno tecidual devido ao rápido desbotamento da coloração de picrofucsina. As moléculas de SRF (ácido) interagem individualmente com as moléculas de colágeno, mantendo relacionamento espacial paralelo com as mesmas, ressaltando a birrefringência. A combinação seletiva com o colágeno permite visualização como fibras amarelo-brilhantes, sendo que o uso da microscopia polarizada aumenta a especificidade, a sensibilidade e a resolução do método (CONSTANTINE; MOWRY, 1968).

Quando o “*Sirius Red*”, um corante ácido forte, reage com o colágeno, sua birrefringência normal é aumentada devido ao fato de suas moléculas serem acoladas às fibrilas de colágeno de maneira que as mesmas fiquem paralelas.

O estudo comparativo de órgãos de animais vertebrados por este método determinou estreita correlação entre a localização de diferentes cores e intensidades de birrefringência com a distribuição bioquímica dos tipos I, II e III de colágeno, criando a possibilidade de diferenciação tecidual dos mesmos. O colágeno tipo I aparece como fibras espessas, fortemente birrefringentes, de coloração amarelo ou

vermelho; já o colágeno do tipo III possui o aspecto de fibras finas, fracamente birrefringentes e de coloração esverdeada (JUNQUEIRA, MONTES e SANCHEZ 1982).

Dayan *et al.* (1989) analisaram vários tipos de fibras colágenas e evidenciaram que a espessura da fibra não é o único fator determinante do padrão de birrefringência. Constataram que o alinhamento das moléculas e o entrelaçamento das fibras afetavam a refração da luz, sendo que fibras espessas e entrelaçadas apresentavam-se laranja-avermelhadas (fibras de colágeno tipo I - maduras), enquanto que fibras finas e pouco entrelaçadas apresentavam-se esverdeadas (fibras de colágeno tipo III - imaturas).

Rabau *et al.* (1995) realizaram estudo da concentração de colágeno em anastomoses intestinais de ratos utilizando SRF e polarização. Verificaram que no intestino de ratos não operados havia predomínio de fibras colágenas de coloração que variava do amarelo ao laranja. Por outro lado, durante a primeira semana pós-operatória, a maioria das fibras no sítio anastomótico apresentava-se fina, de colágeno imaturo, com coloração que variava do verde ao amarelo. Entretanto, as fibras gradualmente retornavam às colorações pré-operatórias até o 21º PO, acompanhando as modificações mecânicas da ferida, sugerindo que a qualidade das fibras de colágeno tem importância na integridade da anastomose intestinal durante sua cicatrização.

A quantificação de fibras maduras e imaturas, de acordo com a sua coloração, permite avaliação qualitativa do colágeno em estudos de cicatrização de anastomoses. No entanto, os parâmetros histológicos, mesmo quando examinados por patologistas experientes, podem apresentar variabilidade inter-observadores. A utilização de equipamentos que digitalizam imagens histológicas permite a quantificação de dados morfológicos com minimização de viés. Com esse propósito, vários estudos informatizaram a análise histológica (COELHO-LEMOS *et al.*, 2004; COSTA *et al.*, 2003; TRUBIAN, 2007).

Coelho-lemos *et al.* (2004), em estudo para verificar a influência da desnutrição intra-uterina na cicatrização da parede abdominal em ratos lactentes, idealizaram o índice de maturação do colágeno (IMaC), que foi definido como a razão entre as percentagens de colágeno tipo I e tipo III. Este índice tem sido

amplamente utilizado por ser de fácil reprodutibilidade e facilitar a interpretação dos resultados, onde valores acima de 1 (um) representam predominância de colágeno tipo I e valores abaixo de 1 (um) representam predomínio de colágeno tipo III (COELHO-LEMOS, 2004; SCHMITZ; CAMPOS; CAMILO, 2006; TRUBIAN, 2007).

2.3 NUTRIÇÃO E CICATRIZAÇÃO

Diversos fatores, locais ou sistêmicos, podem alterar o processo de cicatrização. Muitas condições locais podem afetar negativamente este processo, como isquemia, infecção, técnica cirúrgica inadequada, edema e tensão sobre a linha de sutura. Condições sistêmicas também podem interferir desfavoravelmente no reparo tecidual, como diabetes, hipotireoidismo, desordens da coagulação, idade avançada, trauma grave, instabilidade hemodinâmica, queimadura, sepse, insuficiência renal e hepática, tabagismo, uso de corticoesteróides, radio e quimioterapia (SAVASSI-ROCHA; LOPES, 1994).

O processo de cicatrização necessita de estado nutricional adequado, pois a dinâmica tecidual exige energia, substratos plásticos provenientes de macro e micronutrientes (ROBERTS *et al.*, 1998). Entretanto, a prevalência de desnutrição em pacientes hospitalizados é alta em nosso meio, podendo chegar a 50,2% (WAITZBERG; CAIAFFA; CORREIA, 2001; CORREIA; CAMPOS; ELAN COOPERATIVE STUDY, 2003). Pacientes hospitalizados, com deficiências nutricionais, apresentam maior risco de complicações infecciosas, insuficiência de algum órgão e óbito (JONES; HEYLAND, 2008).

A redução do consumo de alimentos resulta em perda de gordura, massa magra, pele e vísceras, com conseqüente perda de peso e aumento do volume de líquido extracelular (ELWYN; BRYNA-BROWN; SHOEMAKER, 1975). A combinação de perda de massa tecidual com redução da capacidade de trabalho a nível celular

impede respostas homeostáticas a fatores agressores, como doenças graves ou cirurgias (KINNEY; WEISSMAN, 1986).

O estresse de processos cirúrgicos ou trauma aumenta a necessidade de energia e proteína mediante estado hipermetabólico (catabolismo) (KIYAMA *et al.*, 1998). Ocorre redistribuição dos macronutrientes (gordura, proteína e glicose) a partir das reservas lábeis, como o tecido adiposo e o músculo esquelético, para tecidos metabolicamente mais ativos, como o fígado, os ossos e os órgãos viscerais. Esta resposta pode levar ao aparecimento de desnutrição dentro de alguns dias (BABINEAU; BORLASE; BLACKBURN, 1991). A taxa de desenvolvimento de desnutrição em pacientes críticos é função do estado nutricional pré-existente e do grau de hipermetabolismo.

A desnutrição provoca uma série de conseqüências deletérias, incluindo aumento da susceptibilidade à infecção, má cicatrização, aumento da freqüência de úlceras de decúbito, crescimento excessivo de bactérias no trato gastrintestinal, perdas anormais de nutrientes pelas fezes (ELWYN; BRYNA-BROWN; SHOEMAKER, 1975; KINNEY; WEISSMAN, 1986; SANTOS, 1994; MAINOUS; DEITCH, 1994). De particular interesse para os pacientes submetidos a cirurgia são os riscos de sepse pós-operatória e prejuízo à cicatrização. A desnutrição leva à disfunção do sistema imunológico, prejudicando a produção e ativação do complemento, opsonização bacteriana, e a função de neutrófilos, macrófagos e linfócitos (MAINOUS; DEITCH, 1994). Tanto a imunidade humoral quanto a celular são afetadas (LAW; DUDRICK; ABDU, 1973). Este comprometimento imune se relaciona clinicamente com aumento nas taxas de complicações de feridas cirúrgicas e aumento da falha cicatricial após procedimentos cirúrgicos.

A desnutrição prévia ao trauma retarda a contração da ferida nos diferentes tempos, retarda o processo de epitelização da epiderme, aumenta o processo inflamatório e retarda o desenvolvimento do processo proliferativo. Pacientes com desnutrição também têm taxas mais lentas de cicatrização de feridas (HAYDOCK; HILL, 1986), apesar de a maioria cicatrizar espontaneamente (ALBINA, 1994).

Um dos primeiros estudos relacionando desnutrição e cicatrização foi realizado por Clark, em 1919. Esse autor realizou medidas seriadas da dimensão de feridas na superfície cutânea de cães e verificou a influência de dois tipos de dieta

(protéica e lipídica) nos mecanismos de reparo. Constatou benefícios da dieta protéica, com encurtamento da fase de latência. No entanto, Harvey e Howes (1930) evidenciaram que a proteína estimulava a multiplicação e maturação de fibroblastos, com rápido ganho de força tênsil na fase fibroblástica.

Thompson, Ravdin e Frank (1938) foram os primeiros a relacionar a desnutrição com deiscência de feridas operatórias. Esses pesquisadores realizaram laparotomia em cães que receberam dieta hipoprotéica e verificaram que em 72% deles ocorreu déficit de cicatrização da parede abdominal.

Em 1958, Sisson *et al.* compararam a cicatrização de feridas em diversos estados de déficit nutricional. Os autores evidenciaram que o grau de desnutrição correlacionava-se diretamente com a deficiência de força da ferida.

Daly, Vars e Dudrick (1972) realizaram anastomose em segmento descendente do cólon de 124 ratos, os quais foram divididos em oito grupos, de acordo com o tempo de nutrição pré-operatória (1, 2, 4 e 6 semanas) e o tipo de dieta fornecida (hipoprotéica e normal). Após a cirurgia, os ratos continuaram a receber a mesma dieta até o dia do sacrifício (7º PO). A perda ponderal entre os ratos desnutridos (dieta hipoprotéica) variou de 2% a 26%, enquanto o grupo controle ganhou em média 12% de peso. Em todos os grupos desnutridos houve diminuição significativa da pressão de ruptura anastomótica comparada aos respectivos controles, enfatizando o prejuízo da desnutrição sobre as propriedades mecânicas da anastomose colônica.

Coelho-lemos *et al.* (2004) analisaram os efeitos da desnutrição intra-útero na cicatrização da parede abdominal em ratos recém-nascidos. Demonstraram que a desnutrição intra-útero diminui a força tênsil das feridas no 7º PO, com maior incidência de colágeno tipo III (imaturo) na fase inicial de cicatrização em ratos recém-nascidos de mães desnutridas.

Bernhardt (2008) avaliou a influência da desnutrição na cicatrização da anastomose colônica em ratos toxêmicos. Foram utilizados 45 ratos, distribuídos aleatoriamente em três grupos: grupo controle nutrido (GCN), n=15; grupo nutrido toxêmico (GNT), n=15; grupo desnutrido toxêmico (GDT), n=15. Os grupos GCN e GNT receberam água e ração *ad libitum* durante todo estudo. Já o grupo GDT foi

desnutrido pela técnica de *Pair Feeding*. Os grupos GNT e GDT foram submetidos à toxemia com injeções diárias de lipopolissacarídeo (LPS) de *E. coli*, intra-peritoneais. No 5º dia de toxemia, todos os ratos foram submetidos a cirurgia, sendo realizadas anastomoses colônicas. No 5º PO, os ratos foram sacrificados. As anastomoses foram avaliadas por meio de estudo tensiométrico e de densitometria do colágeno. Houve diminuição do peso no GDT, acompanhada de redução da albumina sérica. Nos grupos submetidos à toxemia, houve aumento da PCR, TNF alfa e IL-6. Observou-se diminuição da força máxima de tração no GDT ($p < 0,05$). Houve também diminuição do número de miofibroblastos ($p = 0,03$). O autor concluiu que a desnutrição e a toxemia determinam pior cicatrização de anastomoses colônicas em ratos.

Estudos clínicos também demonstraram os efeitos deletérios da desnutrição em pacientes cirúrgicos. Rady, Ryan e Starr (1997) estudaram 2.743 pacientes submetidos à cirurgia cardiotorácica. Pacientes com hipoalbuminemia pré-operatória, isolada ou em associação com doença hepática crônica ou insuficiência cardíaca congestiva, tinham maior probabilidade de apresentar disfunção orgânica pós-operatória (cardíaca, pulmonar, renal, hepática e neurológica), hemorragia gastrointestinal, infecções hospitalares, aumento da duração da ventilação mecânica e de permanência na unidade de terapia intensiva, e de morte hospitalar.

2.3.1 Terapia nutricional e cicatrização

A terapia nutricional na cicatrização de feridas tem como objetivos prevenir ou repor a depleção dos nutrientes essenciais ao organismo, aumentar a velocidade e a qualidade da cicatrização e reduzir riscos de infecções e outros problemas que possam retardar e/ou prejudicar o processo de reparo tecidual e aumentar o tempo de internação hospitalar (KIYAMA *et al.*, 1998; MOREIRA, 2000).

Na tentativa de estudar os efeitos da terapia nutricional sobre a cicatrização, em situações de desnutrição, diversos trabalhos foram realizados.

Steiger *et al.* (1971) utilizaram dieta hipoprotéica para desnutrir 41 ratos durante seis semanas. Os animais foram divididos em três grupos conforme o tipo de nutrição parenteral administrada durante os primeiros sete dias pós-operatórios (dextrose 30% + aminoácidos 5%; dextrose 35% e dextrose 5%). As médias de pressão de ruptura das anastomoses em cada grupo foram 203, 142 e 149 mm Hg, respectivamente. Esse trabalho demonstrou que pequenos períodos de nutrição parenteral pós-operatória melhoraram a força tênsil de anastomoses colônicas de ratos desnutridos.

Ward *et al.* (1982) simularam o nível de desnutrição comumente visto em pacientes submetidos à anastomose colorretal (12,5% peso corporal) e avaliaram a influência dessa depleção nas propriedades mecânicas de anastomoses em cólon esquerdo de ratos. Dividiram 42 ratos em três grupos: Grupo A (18 ratos que receberam ração normal durante todo estudo); Grupo B (12 ratos que receberam dieta hipoprotéica antes da cirurgia e ração normal no pós-operatório) e Grupo C (12 ratos que receberam dieta hipoprotéica durante todo estudo). Os animais foram alimentados com as respectivas dietas durante sete dias antes da operação e sacrificados no 7º PO. Os resultados demonstraram que os grupos A e B tiveram médias de pressão de ruptura similares, que foram significativamente diferentes da média do grupo C ($p < 0,01$ e $p < 0,005$ respectivamente). Os autores concluíram que a desnutrição, mesmo em graus menores, afetou as propriedades mecânicas da anastomose, sendo que o suporte nutricional adequado no pós-operatório conseguiu prevenir os efeitos adversos.

Trubian (2008) analisou os efeitos da nutrição peri-operatória na cicatrização de anastomoses colônicas de ratos desnutridos e toxêmicos. Foram utilizados 45 ratos, divididos em 3 grupos: grupo controle (C) – ração ad libitum por 21 dias, recebendo injeções de solução salina intra-peritoneais por 4 dias; grupo desnutrido e toxêmico (DT) – desnutridos pela técnica de *Pair Feeding* por 21 dias, recebendo injeções de LPS por 4 dias; grupo desnutrido, toxêmico e com nutrição peri-operatória (DTN) – desnutridos pela técnica do *Pair Feeding*, recebendo injeções de LPS por 4 dias e nutrição peri-operatória por 14 dias. Os ratos foram submetidos a

duas anastomoses colônicas, sendo sacrificados no 5º PO. A média de peso do grupo DTN foi superior ao grupo DT e semelhante ao grupo C, assim como a dosagem de albumina sérica. A dosagem sérica de PCR e TNF foi superior no grupo DT em relação ao DTN e C. No grupo DNT, a tensão máxima foi superior ao grupo DT ($0,86 \pm 0,14$ Kgf/cm² vs. $0,52 \pm 0,06$ Kgf/cm²; $p=0,04$) e semelhante ao grupo C ($0,86 \pm 0,14$ Kgf/cm² vs. $0,89 \pm 0,06$ Kgf/cm²; $p=0,54$). A média da força máxima de tração também foi superior no grupo DTN em relação ao grupo DT ($0,32$ Kgf $\pm 0,06$ vs. $0,10$ Kgf $\pm 0,01$; $p=0,04$) e semelhante ao grupo C ($0,32$ Kgf $\pm 0,06$ vs. $0,18$ Kgf $\pm 0,01$; $p=0,36$). A análise da densitometria do colágeno não demonstrou diferença entre os grupos. O número de miofibroblastos foi superior no grupo DTN em relação ao grupo DT ($6,17 \pm 0,46$ vs. $4,06 \pm 0,77$; $p=0,03$), porém inferior ao grupo C ($6,17 \pm 0,46$ vs. $7,62 \pm 0,28$, $p=0,02$). O número de vasos sanguíneos nas anastomoses foi semelhante nos grupos DT e DNT ($8,11 \pm 0,35$ vs. $8,35 \pm 0,73$, $p=0,59$) e superior ao grupo C ($8,11 \pm 0,35$ vs. $4,33 \pm 0,39$, $p=0,0000$ e $8,35 \pm 0,73$ vs. $4,33 \pm 0,39$, $p=0,0004$). Concluiu-se que a nutrição perioperatória, durante 14 dias, foi eficaz em reverter os efeitos deletérios da desnutrição e da toxemia.

Gonçalves *et al.* (2009) avaliaram a cicatrização colônica de ratos desnutridos, comparando os efeitos da nutrição pré-operatória quanto à deposição de colágeno maduro e força de ruptura da anastomose. Utilizou 80 ratos Wistar, divididos em quatro grupos: grupo controle 1 (ração *ad libitum* durante 21 dias), grupo desnutrido (metade da quantidade diária de ração do grupo controle 1 - *Pair Feeding* - durante 21 dias), grupo controle 2 (ração *ad libitum* durante 28 dias) e grupo desnutrido e realimentado (metade da quantidade diária de ração do grupo controle 2 - *Pair Feeding* - durante 21 dias e realimentado com ração *ad libitum* durante 7 dias). No 21º dia (controle 1 e desnutrido) ou 28º dia do estudo (controle 2 e desnutrido + realimentado) os ratos foram submetidos a duas transecções colônicas seguidas de anastomoses término-terminais. No 5º PO os ratos foram sacrificados e as anastomoses foram ressecadas e submetidas à teste de tração e estudo histológico de densitometria do colágeno. Os resultados demonstraram que a força de ruptura total da anastomose foi significativamente maior no grupo desnutrido realimentado em relação ao grupo desnutrido ($0,09 \pm 0,01$ vs. $0,15 \pm 0,01$ kgf; $p<0,05$), com valores similares aos do grupo controle 2 ($0,15 \pm 0,01$ vs. $0,15 \pm 0,02$ kgf; $p=0,91$). A deposição de colágeno maduro foi menor no grupo desnutrido e realimentado que no controle 2 ($4,90 \pm 0,36$ vs. $6,13 \pm 0,39$; $p=0,010$), mas foi

maior quando comparado ao grupo desnutrido ($4,90 \pm 0,36$ vs. $3,83 \pm 0,35$; $p < 0,05$). Concluiu-se que a nutrição pré-operatória por 7 dias aumenta a força tênsil, assim como o percentual de deposição de colágeno maduro, de anastomoses colônicas de ratos previamente desnutridos.

Os efeitos da suplementação com nutrientes específicos sobre a cicatrização também foram estudados em vários trabalhos experimentais.

Rolandelli *et al.* (1986) analisaram os efeitos da infusão intra-colônica de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) na cicatrização de anastomoses colônicas em ratos. Observaram que a pressão de ruptura foi maior no grupo AGCC em relação ao grupo controle ($p < 0,03$) no 6º PO.

Rolandelli, Buckmire e Bernstein (1997) estudaram a infusão endovenosa de butirato na cicatrização colônica em ratos. Dividiram os animais em dois grupos, um recebendo nutrição parenteral total e outro recebendo nutrição parenteral total com 130mmol/L de N-butilato. O grupo butirato apresentou maior pressão de ruptura em relação ao grupo controle ($p < 0,04$).

Pace, Campos e Graf (2006) avaliaram os efeitos de antioxidantes (vitamina C, E e Ginkgo Biloba) na cicatrização cutânea de ratos. Todos os grupos que receberam antioxidantes apresentaram melhor viabilidade das feridas cutâneas e maior angiogênese (avaliada por contagem histológica) do que os grupos controles.

Partindo do princípio da manipulação nutricional, diversos estudos foram realizados com fitoterápicos, mostrando seus efeitos na cicatrização. Dentre os fitoterápicos estudados, podem ser citados a *Passiflora edulis* (maracujá); *Orbignya phalerata* (babaçu) e a *Jatropha gossypifolia* (pião roxo). Todos mostraram, de alguma forma, melhora na cicatrização da parede abdominal, anastomoses colônicas e gástricas, por meio da avaliação da força de ruptura (BALDEZ *et al.*, 2006; BEZERRA *et al.*, 2006; GOMES *et al.*, 2006; SANTOS *et al.*, 2006).

A terapia nutricional deve prevenir ou repor a depleção dos nutrientes essenciais ao organismo, aumentando a velocidade de cicatrização e diminuindo complicações pós-operatórias. A disponibilização de elementos plásticos, energéticos e imunomoduladores pode melhorar o processo cicatricial.

2.4 IMUNONUTRIÇÃO

A utilização de vários nutrientes, com mecanismos de ação diferentes sobre o sistema imune e inflamatório, em fórmulas únicas de suporte nutricional foi chamada de imunonutrição (O'LEARY; COAKLEY, 1996; NEWSHOLME; HARDY, 1997; MCCOWEN; BISTRAN, 2003).

Em pacientes gravemente enfermos, sabe-se que a função imune encontra-se prejudicada. A resposta orgânica ao estresse, trauma e sepse está relacionada a alterações imunológicas. Conseqüentemente, foi proposto que a terapia nutricional poderia melhorar os mecanismos de defesa do hospedeiro, reduzindo morbidade. Entretanto, a não ser em pacientes desnutridos, o fornecimento de terapia nutricional tradicional traz pequenos efeitos na função imune. Nutrição enteral parece trazer mais benefícios do que a nutrição parenteral na preservação da competência imune. Recentemente, o interesse por nutrientes específicos, que trariam benefícios ao quadro imunológico, aumentou.

Como as complexas interações entre nutrição, função da barreira mucosa, imunorregulação e doença grave se tornam cada vez mais claras, há esperança de que formas únicas de terapia nutricional possam trazer benefícios a alguns estados de doença específica. Muitas fórmulas contêm nutrientes anteriormente considerados não essenciais, mas que, em condições de doença grave, tornam-se "condicionalmente essenciais". Exemplos destes nutrientes são a glutamina, a arginina, os nucleotídeos (como o RNA), os ácidos graxos ômega-3 e os oligoelementos, como o zinco e o selênio. O uso de fórmulas enterais suplementadas com esses componentes é referido como imunonutrição.

2.4.1 Glutamina

A glutamina é um aminoácido não-essencial envolvido no metabolismo do nitrogênio, dos carboidratos, dos ácidos nucleicos e dos fosfolipídios. Produção e degradação são mediadas por duas enzimas: glutamina-sintetase e glutaminase. A glutamina é absorvida no intestino delgado e concentra-se, principalmente, na musculatura esquelética. Dos órgãos que consomem glutamina, o intestino é o principal, direcionando sua utilização na produção de energia.

Diversos estudos comprovam que o aminoácido é importante substrato oxidativo em enterócitos e colonócitos (ARDAWI; NEWSHOLME, 1985; SOUBA; SMITH; WILMORE, 1985; SOUBA, 1991; WINDMUELLER, 1982). No entanto, essas células apresentam dependência importante de fontes exógenas de glutamina para o seu metabolismo. Isso resulta da relativa ausência de glutamina-sintetase no TGI, associada à presença de glutaminase com atividade intensa no intestino delgado e intermediária no cólon (ELIA; LUNN, 1997).

A glutamina mantém relação estreita com os eventos cicatriciais. Participa como substrato da gliconeogênese, fornecendo energia para as células inflamatórias e estimulando a resposta imune precoce. É essencial na proliferação linfocítica e importante precursora da síntese de nucleotídeos em fibroblastos e macrófagos (WILLIAMS; BARBUL, 2003). Além disso, alguns dos seus metabólitos finais (hidroxiprolina, γ -aminobutirato e glutatona) fazem parte da estruturação da molécula do colágeno (HALL; HELL; MCCAULEY, 1996).

Estados de hipercatabolismo e desnutrição levam à depleção dos depósitos de glutamina. Nessas condições, a produção de glutamina não alcança as necessidades da demanda, há diminuição dos níveis plasmáticos do aminoácido e o organismo recupera glutamina a partir do consumo protéico da musculatura esquelética. Esta característica levou alguns pesquisadores a classificarem esse aminoácido como condicionalmente essencial (LACEY e WILMORE, 1990).

Demetriades *et al.* (2000) realizaram estudo comparando os efeitos da administração pós-operatória precoce de três dietas enterais diferentes sobre a

cicatrização de anastomoses colônicas em ratos. Sessenta ratos foram submetidos a anastomoses colônicas e divididos em quatro grupos, conforme o tipo de suplementação pós-operatória. Grupo A (n=15) – solução glicosada. Grupo B (n=15) – nutrição completa balanceada. Grupo C (n=15) – suplementação com fibras. Grupo D (n=15) – suplementação com glutamina. Os ratos foram sacrificados no 7º PO. As pressões de ruptura foram estatisticamente maiores nos grupos C e D, quando comparadas às pressões dos grupos A e B ($p < 0,05$). Entretanto, não houve diferença estatística entre os grupos C e D ($p > 0,05$). Os autores concluíram que a nutrição enteral pós-operatória precoce melhora a cicatrização de anastomoses colônicas em ratos, sendo este efeito mais evidente quando a suplementação contém fibras ou glutamina.

Costa *et al.* (2003) estudaram os efeitos da suplementação de glutamina na cicatrização de anastomoses colônicas em ratos. Os animais foram randomizados para receber diariamente, por sete dias antes da cirurgia e durante o período pós-operatório, L-glutamina 10% (GLN) ou glicina 10% (GLY). Os autores observaram melhora na força máxima de ruptura no grupo GLN ($0,068 \pm 0,045\text{kgf}$ VS. $0,042 \pm 0,027\text{kgf}$, $P=0,04$), com aumento da percentagem de área de colágeno maduro ($58,65 \pm 11,70$ vs. $41,79 \pm 10,54$, $P = 0,0000$), das anastomoses colônicas no 3º e 8º PO em ratos.

Schmitz, Campos e Camilo (2006) avaliaram os efeitos da glutamina em anastomoses colônicas de ratos previamente desnutridos. Os animais foram divididos em três grupos: glutamina, glicina e controle. O grupo glutamina não mostrou vantagem adicional sobre o grupo glicina em relação aos parâmetros de avaliação do processo cicatricial, mas ambos os aminoácidos aumentaram significativamente a força máxima de tração e deposição de colágeno tipo III em relação ao grupo controle.

Entretanto, alguns trabalhos apresentaram resultados diferentes. Figueiredo *et al.* (2009) avaliaram o efeito da suplementação nutricional com glicina e glutamina na epitelização da mucosa colônica, tamanho da área de cicatriz, fibroplasia e resistência tênsil da anastomose intestinal, após colectomia parcial. Quarenta e cinco coelhos foram divididos em cinco grupos, de acordo com o tipo de suplemento. Dois animais morreram em cada grupo por causas diversas. Grupo 1 (n=9) –

suplementação com glutamina durante sete dias antes e cinco dias após a operação. Grupo 2 (n=9) – suplementação com glicina durante sete dias antes e cinco dias após a operação. Grupo 3 (n=9) – suplementação com glutamina durante cinco dias após a operação. Grupo 4 (n= 9) - suplementação com glicina durante cinco dias após a operação. Grupo 5 (n=9) – sem suplementação alimentar. A resistência da anastomose foi medida por meio de pressão de ruptura por insuflação de ar intraluminal. Como resultados, observaram que o Grupo 2 foi o único que apresentou valores de ruptura superiores aos do Grupo 5 ($p<0,05$). Não houve diferença entre os grupos quanto aos aspectos histológicos estudados. Concluíram que a suplementação oral com glicina, no período pré e pós-operatório, aumenta a resistência tênsil anastomótica colônica após colectomia parcial em coelhos.

2.4.2 Arginina

A arginina, um aminoácido dibásico, participa da constituição de diversas proteínas do organismo humano e está envolvida com a síntese de uréia, óxido nítrico (NO), poliaminas e fosfato de creatina. Suas fontes podem ser exógenas ou endógenas, sendo seu maior precursor a citrulina, obtida a partir dos aminoácidos prolina, glutamato e glutamina no intestino (WU, 1998). Após a ingestão de arginina, 40% sofre degradação intestinal pela arginase e o restante é absorvido via portal (SITREN; FISCHER, 1977). O catabolismo protéico não contribui para a produção de arginina e óxido nítrico e, por isso, em situações de estresse grave, há necessidade de suplementação de arginina (WILLIAMS; BARBUL, 2002; WITTE *et al.*, 2002).

A arginina pode modular importantes atividades biológicas, funções metabólicas e imunológicas. O organismo, sob condições de trauma grave, necessita de maior quantidade desse nutriente, que passa a ser classificado como aminoácido condicionalmente essencial (WITTE; BARBUL, 2003; STECHIMILLER; CHILDRESS; COWAN, 2005).

O metabolismo da arginina ocorre por meio de diversas vias, sendo as principais a do NO e da arginase. Ambas as vias ocorrem nos locais de cicatrização, levando à depleção dos estoques de arginina (BOUTARD *et al.*, 1995).

A arginina participa na síntese protéica, como substrato no ciclo da uréia e produção de NO. Também é substrato para ornitina, precursora de poliaminas e outras moléculas envolvidas na cicatrização e regeneração tecidual (MILLS, 2001). A arginina age, indiretamente, na indução da secreção do fator de crescimento insulina símile (IGF-1), importante proteína para o crescimento celular. O IGF-1 induz a enzima ornitina descarboxilase, fator limitante na síntese de poliaminas, fundamental na divisão, diferenciação e crescimento celular (ZALOGA *et al.*, 2004; LANGKAMP-HENKEN *et al.*, 1998). As poliaminas são importantes para angiogênese e apresentam funções antioxidantes ao proteger as células de danos decorrentes do estresse oxidativo (IGARASHI; KASHIWAGI, 2000) (Figura 2).

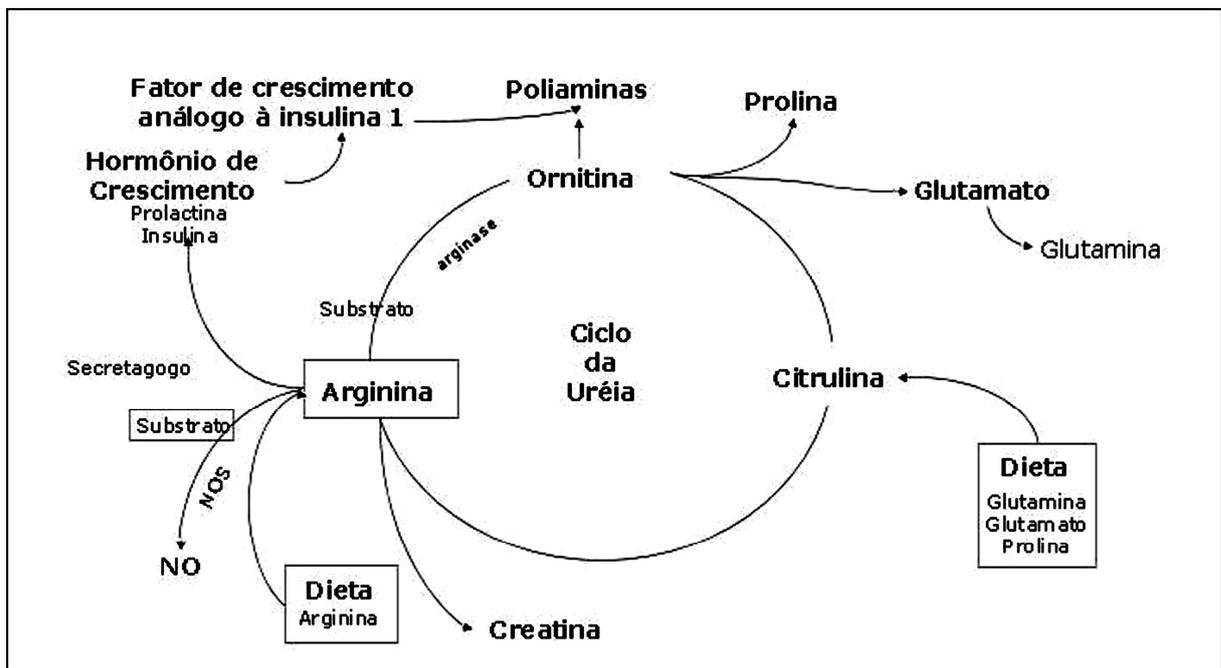


FIGURA 2 – METABOLISMO DA ARGININA.

FONTE – CORRÊA NETO (2008)

Durante o processo de cicatrização, a degradação da arginina é direcionada para duas diferentes vias, via óxido nítrico sintase (NOS) e via arginase (ABD-EL-

ALEEM *et al.*, 2000). A síntese máxima de NOS é 24 a 72 horas após o trauma e tem como produto final o NO e citrulina (SINGER; CLARK, 1999; FRANK *et al.*, 2002). O NO age no aumento da permeabilidade vascular e angiogênese. Possui ação citotóxica na eliminação de bactérias presentes no local da ferida e induz a formação de colágeno, quando produzido por fibroblastos (SCHAEFFER *et al.*, 1999; WITTE; BARBUL, 2003).

A via arginase ocorre 72 horas após o trauma, com a diminuição na produção de NO. Existem 2 tipos de arginase, a arginase tipo I é muito expressa no citoplasma hepático e participa do ciclo da uréia, enquanto a enzima arginase tipo II é de localização mitocondrial no tecido extra-hepático (EVOY; LIEBERMAN; FAHEY, 1998; ZALOGA *et al.*, 2004), sendo que ambas participam na degradação de arginina em ornitina. A arginase I apresenta maior atividade na produção de poliaminas enquanto a arginase II está direcionada para síntese de arginina em ornitina, prolina e glutamato (SHI *et al.*, 2002; WITTE; BARBUL, 2003).

O efeito da suplementação de arginina não está relacionado ao aumento na produção de NO, embora exista aumento nos níveis plasmáticos de arginina e metabólitos do NO, provavelmente pelo aumento da hidroxiprolina (WU *et al.*, 1999). A deficiência de arginina plasmática não influencia diretamente a diminuição da síntese de NO, sugerindo que o pool de arginina endógena seja suficiente para a síntese de NO (CASTILLO *et al.*, 1995).

Evidências sugerem que a ação da arginina sobre a síntese de colágeno ocorra por meio da síntese de NO (SHI *et al.*, 2002), embora, a síntese de colágeno pelos fibroblastos não ocorra em concomitância com a indução de síntese de NO (WITTE; BARBUL, 2002). O NO pode afetar também o processo cicatricial ao participar na regulação de algumas metaloproteinases geradas por fibroblastos e expressas durante a fase de remodelamento, além de influenciar a ação de macrófagos e fibroblastos (FRANK *et al.*, 2002). Assim, a função da arginina na cicatrização é, em parte, dependente do NO (AGREN; FRANZEN, 1990).

Barbul *et al.* (1985) avaliaram os efeitos da infusão endovenosa de arginina no processo de cicatrização da pele e na função imune do timo, em ratos. Observaram aumento na força de tração das feridas, assim como aumento na concentração de hidroxiprolina, no grupo que recebeu maiores quantidade de arginina. Este mesmo grupo apresentou melhora da função do timo, avaliada pelo

aumento de peso do órgão e aumento do número de linfócitos circulantes. Os autores concluíram que a infusão de arginina poderia melhorar o processo de cicatrização de feridas e o sistema imune, em ratos.

Nirgiotis, Hennessey e Andrassy (1991) avaliaram a cicatrização e a função imune, em ratos, mediante quantificação de hidroxiprolina, medida da força de ruptura de ferida em dorso, pesagem do timo e do baço. Provocaram quadro séptico pela injeção intraperitoneal de *Streptococcus pneumoniae*. Os resultados foram favoráveis ao grupo suplementado com arginina, pois este grupo apresentou maiores níveis séricos de albumina e proteína, maiores dimensões de timo e peso do baço. As medidas de excreção total de nitrogênio, balanço nitrogenado e ganho de peso também indicaram maior retenção de nitrogênio no grupo suplementado com a arginina. As quantidades de hidroxiprolina, obtidas nas esponjas implantadas no dorso dos ratos, não apresentaram diferenças significativas entre os grupos. O grupo suplementado com arginina apresentou maiores forças de ruptura. Medidas da imunidade, como a ativação de mitoses em linfócitos estimulada por fito-hemaglutinina e concavalina, morte de bactérias por macrófagos peritoneais, índice de quimiotaxia de macrófagos, evidenciaram efeitos benéficos no grupo suplementado. Os autores concluíram que a suplementação com arginina é benéfica em animais sépticos.

Shashidharan *et al.* (1999) analisaram, em estudo experimental, a influência da suplementação dietética com arginina sobre a cicatrização colônica de anastomoses de ratos. Foram utilizados três grupos, cada um com 42 animais, que receberiam 0%, 1% e 3% de arginina no período de três dias antes e três dias após a cirurgia. Foi realizada secção do cólon transversal, com anastomose término-terminal. Em cada grupo foram sacrificados 14 animais no 6º, 10º e 14º PO. Pressão de ruptura e critérios histológicos (inflamação e colágeno) foram analisados. As médias de pressão de ruptura foram menores no 6º PO no grupo 0% arginina em relação aos grupos 1% e 3% ($p < 0,0005$). No 10º e 14º PO não foram observadas diferenças na pressão de ruptura entre os grupos suplementados com arginina. A pressão de ruptura foi significativamente menor no 6º PO quando comparada aos 10º e 14º PO nos grupos suplementados com arginina. Não houve diferença importante na análise histológica de inflamação e colágeno entre os grupos. Os autores concluíram que a suplementação com arginina melhora a força de ruptura

de anastomoses colônicas de ratos em relação à não suplementação. Arginina a 3% não tem vantagens sobre a arginina a 1% em relação à força de ruptura no 6º, 10º e 14º PO.

Shi *et al.* (2007) estudaram a suplementação parenteral de arginina sobre a cicatrização em ratos com quadros de trauma e choque. Quarenta e oito animais foram divididos em 2 grupos: trauma e choque antes da realização de ferida cirúrgica (n=24); sem trauma ou choque (n=24). Todos os animais foram submetidos a incisão cutânea dorsal, com implantação de esponjas. Metade dos animais de cada grupo recebeu arginina por injeção intra-peritoneal, enquanto os outros receberam injeções de solução salina. Os animais foram sacrificados no 10º PO. Observaram que o trauma e o choque diminuíram a força de tensão da ferida, com diminuição de deposição de colágeno. Arginina aumentou significativamente a força de tensão (19%) e a deposição de colágeno (21%), tanto nos grupos controle quanto nos submetidos a trauma/choque, quando comparada à injeção de solução salina isotônica. Mas, o tratamento com arginina não aumentou a concentração de óxido nítrico nas feridas ou no plasma. Assim, os autores concluíram que a cicatrização é prejudicada pelo trauma/choque, mas pode apresentar resultados melhores com a suplementação com arginina.

Corrêa Neto *et al.* (2008) analisaram o efeito da suplementação dietética perioperatória de arginina na cicatrização das anastomoses colônicas em ratos. Foram utilizados 47 ratos, divididos em três grupos: suplementação com arginina a 10%; solução de aminoácidos a 10%; solução salina isotônica. A suplementação foi realizada por meio de gavagem, por sete dias antes e quatro dias após a cirurgia. Foram realizadas duas anastomoses colônicas, e o sacrifício foi no 5º PO. As anastomoses foram analisadas através de medidas de tração, densitometria do colágeno e estudo imunoistoquímico (presença de miofibroblastos e neovascularização). A tração máxima foi significativamente maior no grupo suplementado com aminoácidos quando comparado ao grupo salina (P=0,04), mas não em relação ao grupo arginina. Quanto à força máxima de tração, houve diferença significativa entre o grupo aminoácido e o grupo salina (P=0,04), mas não em relação ao grupo arginina. A força de ruptura total evidenciou valor maior para o grupo aminoácido em relação ao grupo arginina (P=0,05). Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos em relação à concentração de colágeno,

contagem de vasos sanguíneos ou miofibroblastos. Os autores concluíram que a administração de solução contendo 20 aminoácidos se mostrou mais efetiva do que a administração isolada de arginina nas provas de tração das anastomoses colônicas.

Entretanto, os benefícios da suplementação nutricional com arginina sobre a cicatrização ainda são duvidosos. Naderpour *et al.* (2008) avaliaram os efeitos da L-arginina sobre a cicatrização cutânea. Utilizaram três grupos de ratos: (1) L-arginina a 2%, diluída em água, três dias antes e sete dias após a cirurgia; (2) suplementação com L-arginina por três dias, antes da cirurgia; (3) grupo controle, sem suplementação com L-arginina. Realizaram feridas padronizadas no dorso dos animais, sendo o diâmetro e a profundidade aferidas diariamente. Observaram que o grupo 1 apresentou menor porcentagem de fechamento da ferida no 7º PO, quando comparado aos outros dois grupos ($p < 0,05$). Houve maior depósito de colágeno nas feridas dos grupos 2 e 3, no 7º PO. Assim, concluíram que a administração de L-arginina em água a 2%, por três dias antes e sete dias após feridas cutâneas, pode diminuir as taxas de cicatrização e deposição de colágeno.

Os efeitos da suplementação com arginina também foram avaliados em estudos clínicos.

Kirk *et al.* (1993) realizaram estudo randomizado, duplo cego, para investigar os efeitos da suplementação oral com arginina sobre a cicatrização e função de células-T em humanos idosos. Trinta pacientes, saudáveis, com mais de 65 anos, foram divididos em dois grupos: (1) $n=15$, suplementação diária com 30mg de aspartato de arginina (17mg de arginina), por duas semanas; (2) $n=15$, placebo. A resposta fibroblástica e a concentração de hidroxiprolina foi avaliada por meio de cateter subcutâneo na região do deltóide direito dos pacientes. Epitelização foi avaliada por meio de ferida de 2x2cm, na face lateral da coxa dos pacientes. Linfócitos circulantes foram avaliados no início do estudo e no final da suplementação com arginina. O grupo 1 apresentou maiores concentrações de hidroxiprolina, mas não apresentou melhores taxas de reepitelização das feridas cutâneas. O número de linfócitos foi maior no grupo 1. Assim, os autores concluíram que a suplementação com arginina pode melhorar o processo de cicatrização e o sistema imune em pacientes idosos.

Luis *et al.* (2004), em estudo clínico randomizado, investigaram a utilização de suplementação pós-operatória com arginina em pacientes com câncer de cabeça e pescoço. Noventa pacientes foram divididos em dois grupos: A - fórmula com arginina e fibras (n=45); B - fórmula isonitrogenada e isocalórica, com fibras mas sem arginina. As complicações infecciosas pós-operatórias foram similares nos dois grupos (A=4%, B=9%, ns). Complicações da ferida cirúrgica, como fístulas, foram menos frequentes no grupo suplementado com arginina (A=5%, B=11%, $p<0,05$). O tempo de hospitalização foi menor no grupo A do que no grupo B ($p<0,05$). Os autores concluíram que fórmulas enriquecidas com arginina melhoram as taxas de fístulas, com diminuição do tempo de hospitalização, em pacientes submetidos a cirurgia por câncer de cabeça e pescoço.

2.4.3 Ácidos graxos ômega-3

Dois grupos de ácidos graxos são considerados essenciais: os ácidos graxos ômega-3 (ou ω -3), representados pelo ácido alfa-linolênico, e os ácidos graxos ômega-6 (ou ω -6), representados pelos ácidos linoleico e araquidônico. Os ácidos graxos essenciais de cadeia longa, ácido araquidônico (ω -6), ácido eicosapentaenoico (ω -3) e ácido docosaexaenoico (ω -3), fazem parte da estrutura dos fosfolipídeos, que são componentes importantes das membranas e da matriz estrutural de todas as células. Além de papel estrutural, esses lipídeos podem também modular a função celular ao atuarem como mediadores intracelulares da transdução de sinais e como moduladores das interações entre células (RUTHIG; MECKLING-GILL, 1999).

A composição dos fosfolipídeos de membranas na forma de ácidos graxos é, em parte, determinada pela composição dos ácidos graxos ω -3 e ω -6 da alimentação. Dessa forma, a composição da gordura alimentar pode influenciar várias funções relacionadas à membrana, como ligação de hormônios e atividades associadas a enzimas e transportadores. Na dieta ocidental típica, a proporção ω -6:

ω -3 varia de aproximadamente 10:1 a 30:1, muito diferente de 1:1 a 2:1 que se acredita ter sido a proporção na dieta de populações mais antigas (MCDANIEL *et al.*, 2008).

Algumas ações dos ácidos graxos ω -3 foram descritas: supressão da biossíntese dos eicosanóides derivados do ácido araquidônico, o que resulta em atenuação da resposta imunológica às células tumorais e modulação da inflamação; impacto na proliferação celular, na apoptose e na angiogênese; influência na atividade do fator de transcrição nuclear, na expressão gênica e nas vias de transdução de sinais, levando a mudanças no metabolismo celular, crescimento e diferenciação das células; alteração na produção de radicais livres; e envolvimento em mecanismos diretamente relacionados à sensibilidade à insulina e à fluidez das membranas (RUTHIG; MECKLING-GILL, 1999; MCDANIEL *et al.*, 2008; WAITZBERG; TORRINHAS, 2009).

Uma das mais importantes funções dos ácidos graxos ω -3 e ω -6 é relacionada à conversão enzimática em eicosanóides. Os eicosanóides modulam a resposta inflamatória e a resposta imunológica, além de terem papel importante na agregação plaquetária, no crescimento e na diferenciação celular. A produção de eicosanóides começa com a liberação dos ácidos graxos poli-insaturados da membrana fosfolipídica pela ação de várias fosfolipases. Liberados da membrana, esses ácidos graxos servem como substratos para cicloxigenases, lipoxigenases e citocromo P450 monoxigenase. Cicloxigenases e lipoxigenases agem nos ácidos graxos, produzindo prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos. As prostaglandinas da série dois, produzidas a partir do ácido araquidônico, tendem a ter ação pró-inflamatória e proliferativa na maioria dos tecidos. As prostaglandinas da série três, produzidas a partir do ácido eicosapentaenóico, têm efeito inflamatório e proliferativo menor, atenuando a resposta inflamatória (JONES; HEYLAND, 2008; TODD *et al.*, 2008).

A adição de ω -3 limita os efeitos pró-inflamatórios por meio da diminuição da conversão de ácido linoléico em ácido araquidônico. Além disso, ácidos graxos ω -3 substituem os ω -6 na membrana celular fosfolipídica, levando à diminuição da produção de eicosanóides pró-inflamatórios (como prostaglandina E2 e leucotrienos

B4) e promovendo aumento da produção de eicosanóides com menor potencial inflamatório (como tromboxano e prostaglandina E3) (TODD *et al.*, 2008).

Pontes-Arruda, Aragão e Albuquerque (2006) avaliaram a ação suplementação enteral enriquecida com ácido eicosapentaenóico (EPA), ácido γ -linoléico (AGL) e vitaminas anti-oxidantes sobre a mortalidade de pacientes com sepse grave ou choque séptico, em ventilação mecânica. Incluíram 165 pacientes, randomizados em dois grupos: (1) dieta enriquecida com EPA, AGL e antioxidantes por quatro dias; (2) dieta controle isonitrogenada e isocalórica por quatro dias. Os pacientes foram monitorizados por 28 dias. Houve diminuição da mortalidade no grupo 1, quando comparado ao grupo 2, com redução de risco absoluto de 19,4% ($p=0,037$). Os pacientes do grupo 1 também apresentaram menos dias de ventilação mecânica, menos dias em unidade de terapia intensiva e menor desenvolvimento de disfunção de órgãos.

Pontes-Arruda *et al.* (2008) realizaram metanálise para determinar a efetividade de dietas especializadas enriquecidas com ácido eicosapentaenóico (EPA), ácido γ -linoléico (AGL) e vitaminas anti-oxidantes na oxigenação e resultados clínicos de pacientes com injúria pulmonar aguda e síndrome da angústia respiratória aguda. Três estudos controlados e randomizados, somando 411 pacientes, foram incluídos. Foi observada redução significativa da mortalidade, com reduções significativas no desenvolvimento de insuficiências orgânicas, tempo de ventilação mecânica, tempo em unidade de terapia intensiva em pacientes que receberam EPA, AGL e anti-oxidantes.

2.4.4 Nucleotídeos

Nucleotídeos são componentes intra-celulares de baixo peso molecular, necessários para a síntese de DNA (ácido desoxirribonucléico) e RNA (ácido ribonucléico). Os nucleotídeos dietéticos sofrem influência do trato digestivo e são

quebrados em nucleosídeos e suas bases, que são absorvidos. A utilização de suplementação dietética com nucleotídeos aumenta a síntese protéica, estando envolvido na regulação de diversas respostas imunes mediadas por células T. Além disso, auxiliam na restituição da função imune prejudicada por perdas protéicas (VAN BUREN; KULKARNI; RUDOLPH, 1994).

Os nucleotídeos dietéticos são importantes para o desenvolvimento, a manutenção e o reparo intestinal. Estão envolvidos também nos sistemas de defesa, metabolismo lipídico neonatal e bio-disponibilidade de ferro (LELEIKO; WALSH, 1995). Em indivíduos saudáveis, a quantidade absorvida na dieta é de 1-2g/dia. Em situações de estresse as necessidades estão aumentadas e a falta leva à perda da função dos linfócitos T e diminuição dos níveis de interleucina-2 (SUCHNER; KUHN; FURST, 2000).

Em estudo com modelo animal, a administração de RNA melhorou significativamente a resposta imune, com aumento da sobrevivência em quadros sépticos, enquanto uma dieta sem nucleotídeos resultou em diminuição de interleucina 2, diminuição da imunidade celular e reduziu a resistência à infecção (FANSLOW *et al.*, 1988).

Entretanto, Heyland, Cook e Guyatt (1994), em estudo de revisão da literatura, concluíram que ainda há poucas evidências que indiquem o uso rotineiro de suplementação alimentar com nucleotídeos de forma isolada na prevenção de complicações infecciosas em pacientes gravemente enfermos.

2.4.5 Zinco

Deficiências pré-existentes de micronutrientes, especialmente de zinco, ferro e selênio, são freqüentes em pacientes críticos. Além disso, deficiências podem ocorrer devido à administração inadequada ou inapropriada de micronutrientes durante a terapia nutricional, ou por causa do aumento da necessidade ou aumento

das perdas corporais. Estas deficiências podem afetar negativamente vários processos biológicos, levando a disfunções orgânicas, alteração do sistema imune e prejuízo à cicatrização de feridas (SRIRAM; LONCHYNA, 2009).

O zinco está envolvido em diversos processos metabólicos, sendo essencial à integridade estrutural das proteínas. É componente de mais de 250 metaloenzimas, como piruvato desidrogenase, fosfatase alcalina, DNA e RNA polimerases (HARDY; MENENDEZ; MANZANARES, 2009).

O zinco tem importante papel na manutenção da função imune, na promoção da cicatrização de feridas e na manutenção da integridade da mucosa intestinal. A deficiência de zinco está associada a redução da concentração de IGF-1 e redução nas taxas de síntese protéica. Em certas condições, a deficiência de zinco pode ocorrer com maior facilidade, como nos pacientes grandes queimados, nos casos de pancreatite grave e em pacientes com perda excessiva de fluidos gastrointestinais. A excreção urinária de zinco aumenta com o grau de estresse catabólico. A suplementação de zinco pode ser importante em pacientes graves, mas com monitorização regular dos níveis séricos deste metal (O'LEARY; COAKLEY, 1996; NEWSHOLME; HARDY, 1997).

Agren *et al.* (2008) investigaram os efeitos de injeções intra-peritoneais de zinco na cicatrização colônica em ratos. Sessenta animais foram divididos em quatro grupos de 15 animais: (1) uma injeção com zinco no pré-operatório imediato e injeções com zinco no 1º e 2º PO; (2) uma injeção com zinco no pré-operatório imediato e injeções com zinco do 1º ao 4º PO; (3) uma injeção com solução salina isotônica (SSI) no pré-operatório imediato e injeções de SSI no 1º e 2º PO; (4) uma injeção com SSI no pré-operatório imediato e injeções com SSI do 1º ao 4º PO. A força de tração das anastomoses colônicas foi semelhante entre os grupos 1 e 3, assim como nos grupos 2 e 4. Os autores concluíram que a suplementação parenteral de zinco não melhorou a cicatrização de anastomoses colônicas em ratos.

Binnebösel *et al.* (2009) avaliaram a influência da deficiência de zinco na cicatrização de anastomoses colônicas em ratos. Quarenta ratos foram randomizados em dois grupos: (1) deficiência de zinco (n=20); (2) sem deficiência de zinco (n=20). Em cada animal, uma anastomose no cólon transversal foi realizada.

No 7º PO, os animais foram sacrificados. Em cada grupo, uma fístula anastomótica foi observada. A expressão de metaloproteínas 2, 9 e 13 foi significativamente maior, e a expressão de Ki76 foi significativamente menor no grupo 1. Observou-se que a relação dos tipos de colágeno I/III foi menor no grupo 1. Os autores concluíram que a deficiência de zinco aumenta a atividade de metaloproteínas (2, 9 e 13), levando à redução da relação dos tipos de colágeno I/III.

2.4.6 Selênio

O selênio é um oligoelemento essencial, com funções anti-oxidantes e imunológicas. Tem papel importante no sistema de defesa em condições de inflamação sistêmica aguda, sendo co-fator de enzimas anti-oxidantes, como a glutathiona peroxidase e a tioredoxina redutase. Este metal está envolvido no sistema imune, função cerebral e tireoidiana, e proteção contra doenças cardiovasculares (HARDY; MENENDEZ; MANZANARES, 2009).

O selênio é incorporado à seleno-proteína P, a principal seleno-enzima do plasma, que é responsável por 60% do selênio total no plasma. Outros 30% estão na glutathiona peroxidase, 6% a 10% na albumina e menos de 1% encontra-se livre na circulação.

A disponibilidade de diversos oligoelementos é modificada em situações críticas. A síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SIRS) está associada à redistribuição de oligoelementos da circulação para os tecidos, para a síntese de proteínas e proliferação de células do sistema imune. Isto pode explicar a diminuição sérica de selênio, glutathiona peroxidase e seleno-proteína P em pacientes com SIRS. Baixos níveis de selênio sérico estão relacionados a complicações infecciosas, piora de insuficiências orgânicas e aumento nas taxas de mortalidade. Como outros micronutrientes, os níveis de selênio diminuem primariamente devido a distribuição em diferentes compartimentos corporais e devido às perdas para o

compartimento intersticial por extravasamento capilar. Além disso, perdas por fluidos, hemodiluição, terapias dialíticas e reposição inadequada contribuem para a diminuição da concentração corporal de selênio (MAEHIRA *et al.*, 2002; MANZANARES; HARDY, 2009).

Angstwurm *et al.* (1999) avaliaram os efeitos da reposição de selênio na morbidade e mortalidade de pacientes com síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SIRS). Quarenta e dois pacientes com SIRS por quadros infecciosos, e APACHE (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation) II mínimo de 15 foram divididos em 2 grupos: (1) reposição endovenosa de selênio, por meio de selenito de sódio, por 9 dias, no total de 975 microgramas; (2) grupo controle, com reposição endovenosa de selenito de sódio, no total de 35 microgramas. Nos pacientes do grupo 1, os níveis séricos de selênio e glutathione peroxidase se normalizaram em três dias, enquanto no grupo 2 as duas variáveis permaneceram significativamente mais baixas ($p < 0,0001$). O índice APACHE III diminuiu nos dois grupos, mas mais significativamente no grupo 1. Mortalidade total do grupo 2 foi de 52% vs. 33,5% no grupo 1 ($p = 0,13$).

Angstwurm *et al.* (2007) estudaram a reposição de selênio em pacientes com sepse grave e choque séptico. Foram incluídos 249 pacientes com SIRS, sepse, choque séptico, e APACHE III maior que 70. Os pacientes receberam inicialmente 1000 microgramas de selenito de sódio, endovenoso, seguido de 1000 microgramas por 14 dias ou placebo. Onze pacientes foram excluídos por diversos motivos. Por meio da análise pela intenção de tratar, a taxa de mortalidade no grupo placebo foi de 50% e de 39,7% no grupo suplementado com selênio ($p = 0,109$). Quarenta e nove pacientes foram excluídos por quebra de protocolo. No grupo em estudo, com 92 pacientes, a taxa de mortalidade foi de 42,4%, enquanto a mesma taxa foi de 56,7% no grupo placebo ($p = 0,049$). Concluíram que o tratamento adjuvante com altas doses de selênio diminuí a taxa de mortalidade de pacientes com sepse grave ou choque séptico.

2.5 IMUNONUTRIÇÃO EM SITUAÇÕES CRÍTICAS

Diversos estudos analisaram os efeitos de dietas imunomoduladas, em diferentes momentos de administração, sobre quadros críticos.

Bower *et al.* (1995) analisaram a utilização de nutrição enteral precoce, com fórmula enriquecida com arginina, ácidos graxos ω -3 e nucleotídeos, em unidade de terapia intensiva (UTI). Incluíram 316 pacientes, que foram admitidos em UTI por causa de trauma, cirurgia ou sepse, com APACHE II maior ou igual a 10. Os pacientes foram randomizados em dois grupos: (1) n=168, dieta enteral imunomodulada; (2) n=158, fórmula controle padrão. Não houve diferença estatística em relação ao balanço nitrogenado nos dois grupos, no dia 4 e 7. A taxa de mortalidade foi similar entre os dois grupos. Entretanto, o grupo 1 apresentou menor tempo de hospitalização e menos complicações infecciosas, principalmente entre os pacientes sépticos.

Atkinson, Sieffert e Bihari (1998) avaliaram os efeitos da imunonutrição enteral sobre a mortalidade hospitalar e o tempo de internação, em paciente criticamente enfermos. Realizaram trabalho prospectivo, randomizado, duplo cego, controlado, que incluiu 398 pacientes, divididos em dois grupos: (1) suplementação enteral com dieta enriquecida com arginina, ácidos graxos ω -3 e nucleotídeos; (2) controle com dieta enteral isocalórica e isonitrogenada. Não foram observadas diferenças significativas nas taxas de mortalidade entre os dois grupos. Entretanto, quando foram avaliados subgrupos de pacientes, observou-se diminuição na necessidade de ventilação mecânica e no tempo de hospitalização nos pacientes que receberam imunonutrição precoce (dentro dos três primeiros dias). Assim, os autores concluíram que a administração enteral de imunonutrientes não afeta a mortalidade da população geral de pacientes críticos. Entretanto, quando a nutrição pode ser administrada precocemente, há diminuição da morbidade.

Heys *et al.* (1999) apresentaram metanálise com 11 estudos controlados e randomizados, comparando terapia enteral suplementado com arginina, ácidos graxos ω -3 e nucleotídeos com terapia enteral padrão. Avaliaram os efeitos na

morbidade e mortalidade, assim como tempo de hospitalização. Foram incluídos 1009 pacientes considerados críticos ou submetidos à cirurgia por câncer. Encontraram diminuição de complicações infecciosas e tempo de internação nos pacientes críticos que utilizaram dieta imunomodulada em comparação com a dieta padrão. Resultados similares foram documentados entre pacientes submetidos a cirurgia por câncer. Entretanto, não houve diferença significativa entre os grupos em relação a pneumonia ou óbito. Os autores concluíram que a suplementação com dieta imunomodulada reduz significativamente o risco de complicações infecciosas e tempo de internação em pacientes críticos e com câncer gastrointestinal, mas sem efeito nas taxas de óbitos.

Beale, Bryg e Bihari (1999) realizaram metanálise com o objetivo de verificar se nutrição enteral com dieta imuno-enriquecida traria benefícios a pacientes críticos após trauma, sepse ou cirurgia de grande porte. Doze estudos controlados e randomizados, comparando pacientes que receberam dieta enteral padrão com pacientes que receberam dieta imunomodulada com arginina, ácidos graxos ω -3 e nucleotídeos, foram analisados, totalizando 1482 pacientes. Foram verificadas taxas de mortalidade, infecção, dias de ventilação mecânica, tempo de unidade de terapia intensiva, tempo de hospitalização. Não houve efeito da imunonutrição sobre a mortalidade. Entretanto, houve redução significativa da taxa de infecção, dias de ventilação mecânica e tempo de hospitalização no grupo com dieta imunomodulada.

Galbán *et al.* (2000) avaliaram os efeitos da nutrição enteral suplementada com arginina, ácidos graxos ω -3 e nucleotídeos em pacientes sépticos, em unidade de terapia intensiva. Foram incluídos 181 pacientes, com APACHE II maior ou igual a 10, divididos em dois grupos: (1) dieta enteral enriquecida com imunonutrientes; (2) grupo controle com nutrição enteral com altas concentrações de proteínas. A mortalidade no grupo 1 foi menor do que no grupo 2 ($p < 0,05$). Bacteremia também foi menor no grupo 1, quando comparada ao grupo 2 ($p = 0,01$). Entre os pacientes do grupo 1, os benefícios nas taxas de mortalidade foram maiores nos pacientes com APACHE entre 10 e 15. Os autores concluíram que a nutrição enteral imunomodulada reduz as taxas de mortalidade e infecção em pacientes sépticos, admitidos em unidade de terapia intensiva. Estes resultados foram melhores em pacientes com doença menos grave.

Heyland *et al.* (2001) avaliaram a relação entre nutrição enteral suplementada (glutamina, arginina, ácidos graxos ω -3 e nucleotídeos), complicações infecciosas e taxa de mortalidade. Realizaram trabalho de revisão, que incluiu 22 estudos randomizados, abrangendo 2419 pacientes críticos, cirúrgicos ou não. Imunonutrição foi associada a menores taxas de complicações infecciosas, sem alterações nas taxas de mortalidade. Os autores concluíram que a imunonutrição pode diminuir as taxas de complicações infecciosas, mas não alteram a mortalidade.

Montejo *et al.* (2003) realizaram revisão sistemática sobre os efeitos da nutrição enteral com farmaconutrientes em pacientes críticos. Vinte e seis estudos clínicos randomizados, comparando pacientes críticos que receberam algum tipo de dieta imunomodulada com pacientes que receberam dieta enteral padrão, foram incluídos. Verificaram redução nas taxas de infecção no grupo imunomodulado, com baixa incidência de abscessos abdominais, pneumonia nosocomial e bacteremia. Pacientes que receberam dieta suplementada também apresentaram redução do tempo de ventilação mecânica, tempo em unidade de terapia intensiva e tempo de hospitalização. Entretanto, não foram observados efeitos sobre a mortalidade. Os autores recomendaram a utilização de dieta enteral imunomodulada em pacientes críticos.

Porém, Jones e Heyland (2008), em recente trabalho de revisão, questionaram a utilização da imunonutrição em pacientes críticos, já que diversos trabalhos com resultados positivos apresentam falhas metodológicas, como inclusão de pacientes com doenças diferentes, diferentes índices de gravidade, utilização de doses diferentes de nutrientes.

2.6 IMUNONUTRIÇÃO E CIRURGIA

Kemen *et al.* (1995) avaliaram os efeitos da nutrição pós-operatória precoce com dieta enteral suplementada com arginina, ácidos graxos ω -3 e nucleotídeos na

função imune de pacientes submetidos a cirurgia por câncer do trato digestivo alto. Quarenta pacientes foram randomizados em grupos conforme a dieta recebida: grupo com suplementação com dieta imunomodulada, via jejunostomia; grupo controle com dieta isocalórica e isonitrogenada, via jejunostomia. O número de linfócitos T foi maior no grupo suplementado, no 10º e 16º PO ($p < 0,05$). A concentração média de interferon gama foi maior no grupo suplementado, no 16º PO. No grupo suplementado, a concentração média de imunoglobulina M foi maior no 10º e 16º PO ($p < 0,05$) quando comparado com o grupo controle. Índices de linfócitos B foram maiores no grupo suplementado, no 7º e 10º PO ($p < 0,05$). Assim, os autores concluíram que a suplementação pós-operatória precoce com arginina, ácidos graxos ω -3 e nucleotídeos melhora as respostas imunológicas em pacientes submetidos a cirurgia por câncer do trato digestivo alto.

Schilling *et al.* (1996) avaliaram, mediante estudo prospectivo e randomizado, pacientes submetidos a cirurgia abdominal maior que receberam no pós-operatório dieta enteral suplementada (arginina, ácidos graxos ω -3 e nucleotídeos), dieta enteral padrão e solução endovenosa com baixas calorias e gordura. Após quatro dias de pós-operatório, houve diferenças estatísticas na diminuição na contagem de leucócitos e no aumento da porcentagem de linfócitos nos grupos de dieta enteral em relação ao grupo nutrição endovenosa. A expressão de antígeno ativado de superfície HLA-DR diminuiu nas células CD14+ no grupo dieta enteral suplementada, sugerindo menor resposta imunológica. O tempo de hospitalização e em unidade de terapia intensiva foi semelhante nos três grupos, mas as complicações infecciosas foram menos freqüentes no grupo com dieta suplementada. Os autores concluíram que dieta enteral precoce padrão e suplementada podem influenciar a competência imune através de uma resposta de defesa mais eficiente, diminuindo complicações infecciosas.

Senkal *et al.* (1997) analisaram os efeitos da suplementação com dieta imunomodulada com arginina, ácidos graxos ω -3 e nucleotídeos no pós-operatório precoce de pacientes com câncer do trato gastrointestinal alto. Neste estudo, 154 pacientes, admitidos na unidade de terapia intensiva após cirurgia para câncer do trato digestivo alto, receberam dieta enteral precoce via jejunostomia. Foram divididos em grupo com dieta imunomodulada ($n=77$) e grupo controle com dieta isocalórica e isonitrogenada ($n=77$). Foram analisadas as complicações infecciosas,

complicações da ferida cirúrgica e seus custos. Complicações pós-operatórias ocorreram em 17 pacientes do grupo em estudo e em 24 do grupo controle. Entretanto, analisando-se o período após o 5º PO, ocorreram cinco complicações no grupo em estudo e 13 no grupo controle ($p < 0,05$). Os custos das complicações foram menores no grupo de estudo do que no grupo controle. Os autores concluíram que nos pacientes que receberam a dieta imunomodulada houve redução da frequência de complicações infecciosas e de ferida cirúrgica, com menores custos, em relação ao grupo controle.

Braga *et al.* (1998) conduziram estudo para avaliar a administração pré e pós-operatória de dieta enteral imuno-enriquecida sobre o metabolismo protéico e estado imune. Trinta pacientes, candidatos a gastrectomia por câncer, foram randomizados em dois grupos: dieta enteral enriquecida com arginina, ácidos graxos ω -3 e nucleotídeo, sete dias antes e sete dias depois da cirurgia ($n=15$); mesma dieta, mas apenas nos sete dias após a cirurgia. Imunonutrição perioperatória resultou em melhores índices de capacidade de fagocitose, resposta de hipersensibilidade retardada, número total de linfócitos quando comparada com a nutrição pós-operatória ($p < 0,05$). Os níveis de interleucina 2 foram maiores no grupo perioperatório, no 4º e 8º PO. Também apresentou menores níveis de interleucina 6, no 1º, 4º e 8º PO, assim como maiores quantidades de pré-albumina no 8º PO. A administração perioperatória de imunonutrição melhorou os mecanismos de defesa dos pacientes, controlou a resposta inflamatória e melhorou a síntese de proteínas constitutivas de curto tempo de meia vida.

Braga *et al.* (1999) avaliaram os efeitos da administração perioperatória de suplementação enteral enriquecida com arginina, ácidos graxos ω -3 e nucleotídeos nas taxas de infecção pós-operatória. Foram randomizados 206 pacientes com câncer colorretal, estômago e pâncreas em dois grupos: dieta enteral controle ($n=104$) por sete dias, antes da cirurgia; dieta enteral enriquecida com arginina, ácidos graxos ω -3 e nucleotídeos por sete dias, antes da cirurgia. As dietas foram continuadas no período pós-operatório via jejunostomia, 6 horas após a cirurgia. Os autores observaram taxa de complicação infecciosa pós-operatória de 14% no grupo estudo e 30% no grupo controle ($P=0,009$). Houve diminuição no tempo de internação no grupo imunomodulado.

Wu *et al.* (2001) avaliaram a modulação inflamatória e imune pós-cirúrgica com a utilização de dieta enteral imunomodulada precoce com arginina, ácidos graxos ω -3 e nucleotídeos, por meio de estudo prospectivo, randomizado, duplo-cego. Incluíram 48 pacientes com câncer gastrointestinal, que foram randomizados em dois grupos: dieta imunomodulada com arginina, ácidos graxos ω -3 e nucleotídeos no pós-operatório precoce; dieta isocalórica e isonitrogenada no pós-operatório precoce. No grupo suplementado, a habilidade de fagocitose após a cirurgia foi maior, com menores níveis de proteína C reativa ($p < 0,01$), em relação ao grupo controle. O grupo imunomodulado apresentou maiores taxas de óxido nítrico, linfócitos totais, linfócitos T, com níveis menores de interleucina 6 e fator de necrose tumoral alfa. Os autores concluíram que dieta enteral pós-operatória precoce enriquecida com arginina, ácidos graxos ω -3 e nucleotídeos em pacientes com câncer gastrointestinal pode modular positivamente a resposta inflamatória e imune.

Tepaske *et al.* (2001) analisaram se a utilização oral pré-operatória de suplemento nutricional imuno-enriquecido poderia melhorar as defesas dos pacientes, com diminuição das taxas de infecção pós-operatória em pacientes submetidos à cirurgia cardíaca. Este trabalho prospectivo, randomizado, duplo-cego, dividiu 50 pacientes que iriam ser submetidos a cirurgia cardíaca em dois grupos: suplementação oral pré-operatória por no mínimo cinco dias com dieta enriquecida com arginina, ácidos graxos ω -3 e RNA ($n=25$); controle ($n=25$). Expressão pré-operatória de HLA-DR em monócitos foi significativamente maior em pacientes que receberam a dieta em estudo ($p=0,02$). Entretanto, as concentrações de interleucina 6 foram menores no grupo de dieta suplementada ($p=0,032$). Adicionalmente, resposta de hipersensibilidade retardada melhorou no período pré-operatório e continuou melhor até a alta hospitalar. Em relação aos quadros infecciosos, ocorreram quatro no grupo de dieta enriquecida e 22 no grupo controle ($p=0,01$). Assim, os autores concluíram que a ingesta oral pré-operatória de suplemento imuno-enriquecido, por no mínimo cinco dias, pode melhorar o quadro imunológico de pacientes submetidos a cirurgia cardíaca.

Braga *et al.* (2002b) utilizaram dieta imunomodulada com arginina, ácidos graxos ω -3 e nucleotídeos em pacientes submetidos a cirurgia por câncer colorretal e avaliaram a resposta imune, oxigenação intestinal e infecções pós-operatórias. Dividiram 200 pacientes com câncer colorretal em quatro grupos: (A) dieta oral por

cinco dias antes da cirurgia com fórmula enriquecida (n=50); (B) mesmo tratamento pré-operatório, prolongado após a cirurgia por meio de infusão jejunal (n=50); (C) dieta oral por cinco dias antes da cirurgia com fórmula padrão isocalórica e isonitrogenada (n=50); sem suplementação dietética (n=50). Os dois grupos que receberam imunonutrientes apresentaram melhora da resposta imune, oxigenação intestinal e microperfusão em relação aos outros dois grupos. As taxas de infecção foram de 12% (grupo A), 10% (grupo B), 32% (grupo C) e 30% (grupo D), com $p < 0,04$ (A e B vs. C e D). Os autores concluíram que a fórmula enriquecida no pré-operatório melhora a resposta imunometabólica e diminui a taxa de infecção. Entretanto, o prolongamento da nutrição imunomodulada no pós-operatório não traz benefícios adicionais.

Braga *et al.* (2002a) avaliaram os efeitos da nutrição enteral imunomodulada com arginina, ácidos graxos ω -3 e nucleotídeos em pacientes com câncer gastrointestinal. Incluíram 150 pacientes, com perda de peso maior que 10%, candidatos a cirurgia eletiva de grande porte por câncer gastrointestinal. Formaram três grupos: (1) n=50, nutrição enteral precoce, com dieta padrão; (2) n=50, dieta enteral imunomodulada por sete dias antes da cirurgia e dieta enteral padrão no pós-operatório; (3) n=50, dieta enteral imunomodulada por sete dias antes da cirurgia e no pós-operatório. Foram observadas 24 complicações no grupo 1, 14 no grupo 2 e 9 no grupo 3 ($p=0,02$, grupo 1 vs. grupo 3). O tempo de internação pós-operatória foi menor no grupo 2 (13,2 dias) e no grupo 3 (12 dias), em relação ao grupo 1 ($p=0,01$ e $p=0,001$, respectivamente).

Gianotti *et al.* (2002) estudaram, por meio de trabalho prospectivo, se a suplementação pré-operatória com dieta imunomodulada (enriquecida com arginina, ácidos graxos ω -3, nucleotídeos) poderia ser mais eficaz na redução de infecção pós-operatória e de tempo de hospitalização do que a suplementação peri-operatória e o tratamento convencional, sem suplementação. Porém, neste trabalho, incluíram pacientes com perda de peso menor que 10% no pré-operatório, diferentemente de outros trabalhos do mesmo grupo. Um total de 305 pacientes foram randomizados: suplementação oral com dieta enteral enriquecida com arginina, ácidos graxos ω -3 e nucleotídeos, por cinco dias antes da cirurgia, sem suporte nutricional após a cirurgia (n=102); o mesmo tratamento pré-operatório, associado à infusão pós-operatória da mesma dieta suplementada via jejunostomia (n=101); tratamento

convencional, sem terapia nutricional, nem no pré nem no pós-operatório (n=102). Análise pela intenção de tratar mostrou incidência de infecção pós-operatória de 13,7% no grupo pré-operatório, 15,8% no grupo perioperatório, e 30,4% no grupo convencional (P=0,006 vs. pré-operatório; P=0,02 vs. perioperatório). O tempo de hospitalização foi estatisticamente maior no grupo convencional, quando comparado com os grupos com terapia nutricional. Concluiu-se que a suplementação pré-operatória com dieta enteral imunomodulada é tão eficaz quanto a suplementação peri-operatória na redução de infecção pós-operatória e do tempo de hospitalização, e que ambas as estratégias são superiores ao tratamento convencional.

Horie *et al.* (2006) realizaram estudo prospectivo para avaliar os efeitos da imunonutrição enteral pré-operatória sobre a infecção de sítio cirúrgico em pacientes com câncer colorretal. Neste trabalho, foram incluídos pacientes não desnutridos. Sessenta e sete pacientes foram seqüencialmente distribuídos em dois grupos: imunonutrição com dieta enteral suplementada com arginina, ácidos graxos ω -3 e nucleotídeos por cinco dias antes da cirurgia (n=33) e controle (n=34). O grupo com dieta suplementada apresentou melhores resultados de infecção de sítio cirúrgico em relação ao grupo controle (0 vs. 5, $p < 0,05$). Os autores concluíram que a imunonutrição enteral pré-operatória parece ser efetiva na prevenção de infecção de sítio cirúrgico em pacientes com câncer colorretal não desnutridos.

Waitzberg *et al.* (2006) apresentaram, em metanálise recente, a relação entre imunonutrição pré, pós e perioperatória com morbidades pós-operatórias em pacientes submetidos à cirurgias eletivas. Em todos os estudos analisados os pacientes receberam dieta enteral imunomodulada com arginina e antioxidantes, antes e/ou após cirurgias eletivas. Foram analisados 17 estudos, incluindo 2305 pacientes. A suplementação com arginina, ácidos graxos ω -3 e nucleotídeos, em geral, foi associada à redução das complicações infecciosas pós-operatórias, com diminuição do tempo de internação. Os melhores resultados foram observados em pacientes que receberam a dieta imunomodulada no pré-operatório.

Takeuchi *et al.* (2007) estudaram a possibilidade de redução de complicações pós-operatórias, em paciente submetidos a esofagectomia por carcinoma espinocelular de esôfago, mediante utilização de dieta enteral imunomodulada (arginina, ácidos graxos ω -3, nucleotídeos) no pré e/ou pós-operatório. Quarenta

pacientes submetidos a esofagectomia foram divididos em três grupos: (A, n=20) dieta enteral padrão via jejunostomia após a cirurgia; (B, n= 6) dieta enteral suplementada após a cirurgia; (C, n=14) dieta enteral suplementada antes e após a cirurgia. No 7º PO, as contagens de linfócitos foram similares entre os grupos C e A ($P=0,07$), e significativamente maiores no grupo B ($P=0,03$). A incidência de infecção de ferida cirúrgica no grupo C foi menor que no grupo A ($P=0,03$). A duração da resposta inflamatória sistêmica foi menor no grupo C do que no grupo A ($p<0,05$). Os autores concluíram que a utilização peri-operatória de fórmula imuno-enriquecida é superior à fórmula enteral padrão na redução de complicações infecciosas pós-cirúrgicas e redução da resposta inflamatória sistêmica.

Okamoto *et al.* (2009) avaliaram os efeitos da imunonutrição pré-operatória na imunidade, duração da resposta inflamatória sistêmica (SIRS) e complicações pós-operatórias, em pacientes com câncer gástrico. Foram incluídos 60 pacientes, randomizados em dois grupos: (1) dieta enteral enriquecida com arginina, ácidos graxos ω -3 e nucleotídeos, por sete dias antes da cirurgia; (2) dieta enteral padrão, por sete dias antes da cirurgia. Observaram incidência significativamente menor de complicações infecciosas pós-operatórias no grupo 1 ($p<0,05$). A duração da SIRS foi menor no grupo 1 ($p<0,05$). O número de linfócitos T CD4 foi maior no grupo 1, no 1º PO e 7º PO ($p<0,05$). Os autores concluíram que a suplementação enteral imunomodulada pré-operatória melhora a imunidade, reduz a duração da SIRS e diminui a incidência de complicações infecciosas, em pacientes submetidos a cirurgia por câncer gástrico.

Apesar de diversos trabalhos na literatura mostrarem benefícios da utilização de dietas imunomoduladas em pacientes cirúrgicos, principalmente na diminuição de complicações infecciosas pós-operatórias e tempo de internação, este tema ainda é controverso. Jones e Heyland (2008), em trabalho de revisão recente, criticam os resultados de diversos trabalhos que avaliaram os efeitos da imunonutrição devido a problemas metodológicos.

Helminen, Raitanen e Kellosalo (2007) não mostraram vantagens com a utilização de dieta imunomodulada em pacientes cirúrgicos. Conduziram estudo prospectivo e randomizado para determinar se imunonutrição perioperatória diminuía a morbidade pós-operatória, especialmente complicações infecciosas, além da

mortalidade e tempo de hospitalização, em pacientes submetidos a cirurgias de grande porte sobre o trato gastrointestinal. Diferentemente de outros trabalhos, incluíram doenças benignas, além de doenças malignas, do trato digestivo. Cem pacientes foram randomizados em dois grupos: (1) suplementação oral por cinco dias antes e cinco dias após a cirurgia com fórmula enriquecida com arginina, ácidos graxos ω -3 e nucleotídeos (n=50); (2) sem suplementação nutricional. Houve 9 (18%) complicações infecciosas em ambos os grupos. Taxas de complicações totais foram de 28% (n=14) no grupo 1 e 24% (n=12) no grupo 2. Não houve diferença significativa entre os grupos em relação às complicações, à mortalidade e ao tempo de internação. Os autores concluíram que imunonutrição perioperatória de rotina em pacientes submetidos à cirurgia gastrointestinal de grande porte não é benéfica.

2.7 IMUNONUTRIÇÃO E CICATRIZAÇÃO

O processo de cicatrização também sofre interferências com a utilização de imunonutrição. Entretanto, são poucos os trabalhos que utilizam metodologia específica para a avaliação do processo de cicatrização.

Em modelo experimental, Pereira (2006), analisaram o efeito de nutrição enteral suplementada com arginina e antioxidantes sobre o processo de cicatrização de feridas cutâneas em ratos nutridos e previamente desnutridos, em termos de avaliação morfo-estrutural, bioquímica e biologia molecular. Seus resultados mostraram que, apesar da suplementação, os animais previamente nutridos apresentaram melhores resultados cicatriciais em relação aos ratos desnutridos. Entre os ratos desnutridos, os melhores resultados foram alcançados naqueles que receberam suplementação com arginina e antioxidantes, em relação àqueles que receberam dieta padrão.

Em estudo clínico, Ferreras *et al.* (2005) avaliaram o efeito da imunonutrição pós-operatória precoce no processo de cicatrização em pacientes submetidos a

cirurgia para câncer gástrico. Foram randomizados 66 pacientes com câncer gástrico para receberem no pós-operatório dieta enteral imunomodulada (arginina, ácidos graxos ω -3, nucleotídeos) ou controle isocalórico e isonitrogenado. O processo de cicatrização foi avaliado por meio da quantificação de deposição de hidroxiprolina em cateter posicionado no subcutâneo, e por meio da ocorrência de complicações da ferida cirúrgica. Os pacientes que receberam dieta imunomodulada apresentaram maiores taxas de hidroxiprolina local (59,7 nmol VS. 28,0 nmol, $P=0,0018$) e menos episódios de complicações da ferida cirúrgica (0 vs. 8, $P = 0,005$) quando comparados aos pacientes que receberam fórmula padrão. Os autores concluíram que a nutrição pós-operatória precoce com fórmula enteral suplementada com arginina, ácidos graxos ω -3 e nucleotídeos aumenta a síntese de hidroxiprolina e melhora a cicatrização da ferida cirúrgica em pacientes submetidos à gastrectomia por câncer gástrico.

Waitzberg *et al.* (2006), em metanálise que incluiu 17 estudos e 2305 pacientes, observaram que as fístulas anastomóticas foram 46% menos prevalentes quando a suplementação com arginina, ácidos graxos ω -3 e nucleotídeos fez parte do tratamento pré-operatório, em pacientes submetidos à cirurgia eletiva.

3 MATERIAL E MÉTODO

Este estudo faz parte da linha de pesquisa em Cicatrização dos Tecidos e Medidas de Resistência, do Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da Universidade Federal do Paraná - UFPR. Foi realizado de acordo com as normas de pesquisa animal dispostas na legislação nacional, obedecendo aos Princípios Éticos na Experimentação Animal postulados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), e foi previamente aprovado no comitê de ética em pesquisa animal da UFPR (ANEXO 1).

A normatização do trabalho seguiu as recomendações do Sistema de Bibliotecas (SIBI) da Universidade Federal do Paraná (UFPR) estabelecidas nas Normas para Apresentação de Documentos Científicos (2007).

3.1 ANIMAIS

Foram utilizados 24 ratos Wistar (*Rattus norvegicus albinus*, *Rodentia mammalia*), machos, adultos, provenientes do Biotério da Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí/SC.

3.2 RAÇÃO

Durante todo o período de aclimatação e de estudo, os animais receberam água e ração balanceada *ad libitum*, padrão Nuvilab CR1®, produzido pela empresa Nuvital Nutrientes, Colombo, PR, Brasil (Quadro 1).

Carbonato de cálcio, farelo de milho, farelo de soja, farelo de trigo, fosfato bicálcico,
Umidade (máximo): 12,5%
Proteína bruta (mínimo): 22%
Cálcio (máximo): 1,4%
Fósforo (mínimo): 0,8%
Etrato etéreo (mínimo): 4%
Material mineral (máximo): 10%
Matéria fibrosa (máximo): 8%
Vitaminas: A, D3, E, K3, B1, B2, B6, B12, niacina, ácido pantotênico, ácido fólico,
Microelementos: ferro, zinco, cobre, iodo, manganês, selênio, cobalto.

QUADRO 1 – COMPOSIÇÃO DA RAÇÃO ESPÉCIE-ESPECÍFICA PARA RATOS NUVILAB-CR1®

FONTE: Nuvital Nutrientes, Colombo, PR, Brasil

3.3 DIETAS ENTERAIS

Foram utilizadas duas dietas enterais industrializadas isocalóricas e isonitrogenadas, que diferiam principalmente em relação às quantidades de arginina, nucleotídeo, ácidos graxos ω -3 e alguns oligoelementos (selênio e zinco).

3.3.1 Dieta enteral enriquecida

Foi utilizada dieta enteral enriquecida com arginina e oligoelementos (selênio e zinco), com composição demonstrada na Tabela 1.

3.3.2 Dieta enteral padrão

Foi utilizada dieta enteral padrão, com composição demonstrada na Tabela 1.

TABELA 1 - COMPOSIÇÃO DAS DIETAS ENTERAIS INDUSTRIALIZADAS ADMINISTRADAS. QUANTIDADE EXPRESSA POR ML DE DIETA

Nutrientes	Dieta Enriquecida	Dieta Padrão
Energia	1 Kcal	1 Kcal
Proteína	0,056 g	0,056 g
L-arginina	0,0125 g	-
Lipídeos	0,028 g	0,028 g
ω6:ω3	1,3:1	-
Carboidratos	0,130 g	0,130 g
Fibras dietéticas	0	0
Nucleotídeos	0,0012	-
Minerais		
Sódio	1,56 mg	1,56 mg
Potássio	0,97 mg	0,97 mg
Cloro	0,89 mg	0,89 mg
Cálcio	0,61 mg	0,61 mg
Fósforo	0,80 mg	0,80 mg
Magnésio	0,23 mg	0,23 mg
Oligoelementos		
Ferro	0,012 mg	0,012 mg
Zinco	0,015 mg	-
Cobre	1,700 mcg	1,700 mcg
Manganês	0,002 mg	0,002 mg
Flúor	0,002 mg	0,002 mg
Molibdênio	0,018 mcg	0,018 mcg
Selênio	0,010 mcg	-
Cromo	0,010 mcg	0,010 mcg
Iodo	0,150 mcg	0,150 mcg
Vitaminas		
Vitamina A	0,200 mcg	0,200 mcg
Carotenóides	0,002 mg	0,002 mg
Vitamina D	0,007 mcg	0,007 mcg
Vitamina E	0,003 mg	0,003 mg
Vitamina K	0,068 mcg	0,068 mcg
Tiamina	0,002 mg	0,002 mg
Riboflavina B2	0,002 mg	0,002 mg
Niacina	0,022 mg	0,022 mg
Ácido pantotênico	0,008 mg	0,008 mg
Vitamina B6	0,002 mg	0,002 mg
Ácido fólico	0,270mcg	0,270mcg
Biotina	0,068 mcg	0,068 mcg
Vitamina C	0,170 mg	0,170 mg
Colina	0,270 mg	0,270 mg

FONTE: Nestlé Nutrition

3.4 CONSIDERAÇÕES AMBIENTAIS

O estudo foi realizado no Laboratório de Cirurgia Experimental do Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da Universidade Federal do Paraná (UFPR). As condições ambientais do laboratório foram controladas eletronicamente (Cronomat[®], Mallory do Brasil, São Paulo) para se manter temperatura média de 22 graus Celsius e ciclo claro-escuro de 12 horas.

Durante o período de aclimação de três dias, antes do início do experimento, os ratos receberam água potável e ração *ad libitum*.

Durante todo o período de estudo, os animais foram agrupados em número de quatro, em gaiolas coletivas de aproximadamente 0,022 m³ (41,4 cm x 34,4 cm x 16 cm). As gaiolas, em número total de 6 (seis), foram identificadas e acomodadas sobre estantes horizontais.

3.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

3.5.1 Grupos de pesquisa

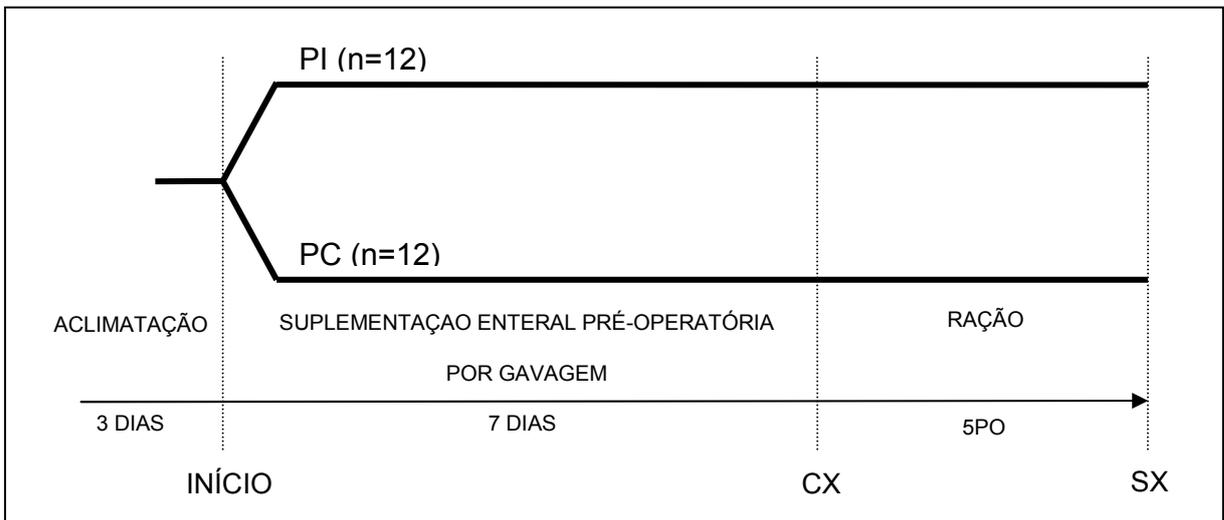
Após período de aclimação, os animais foram pesados e divididos de forma randomizada em dois grupos, de acordo com o tipo de suplementação enteral a ser recebida.

GRUPO PI: grupo submetido à suplementação pré-operatória com a dieta enteral enriquecida. Os animais, em número de 12 (doze), receberam ração espécie-

específica para ratos, *ad libitum*, durante os sete dias de pré-operatório. Foi realizada, neste mesmo período, a suplementação com a dieta em estudo, por meio de gavagem, utilizando-se a quantidade de dieta capaz de fornecer 0,5g arginina/Kg peso/dia. No período pós-operatório, receberam nutrição com ração espécie-específica para ratos, *ad libitum*.

GRUPO PC: grupo submetido à suplementação pré-operatória com a dieta enteral controle. Os animais, em número de 12 (doze), receberam ração espécie-específica para ratos, *ad libitum*, durante os sete dias de pré-operatório. Foi realizada, neste mesmo período, a suplementação com a dieta controle, por meio de gavagem, utilizando-se dose isovolumétrica ao peso. No período pós-operatório, receberam nutrição com ração espécie-específica para ratos, *ad libitum*.

3.5.2 Delineamento da pesquisa



LEGENDA: PI = grupo suplementação enteral com dieta em estudo; PC = grupo suplementação com dieta enteral controle; CX = dia da cirurgia; 5PO = período pós-operatório (nutrição com ração); SX = dia da morte dos animais.

3.6 MORBIDADE E MORTALIDADE

A evolução pós-operatória, mediante avaliação clínica, foi analisada. Foram observadas complicações, como deiscência anastomótica ou obstrução intestinal.

Após o sacrifício dos animais, foi realizada cuidadosa inspeção da cavidade abdominal. Complicações anastomóticas, como deiscência, abscessos, estenose, foram avaliadas.

Durante todo período do estudo, a ocorrência de óbitos foi observada.

3.7 CONTROLE DO PESO

O controle do peso dos animais foi realizado no início do experimento (após a aclimação) e diariamente, nas fases pré e pós-operatórias. As medidas foram utilizadas a fim de se realizar o cálculo das doses diárias das dietas enterais a serem suplementadas. Utilizou-se balança eletrônica (AM 5500[®] Marte, São Paulo, SP) para a aferição e a unidade utilizada foi o grama (g).

3.8 GAVAGEM

A suplementação com dieta enteral foi realizada por meio de sondagem orogástrica, após sedação com éter etílico em campânula. Foi utilizada sonda plástica maleável de 8F, com 10 cm de extensão e 2 mm de diâmetro interno.

O rato foi contido com a mão esquerda do pesquisador, enquanto na mão direita a sonda acoplada a uma seringa de 3ml, contendo a dose apropriada da dieta, foi introduzida até o ponto correspondente à distância entre a boca e o apêndice xifóide do animal (Figura 3). Os volumes infundidos foram calculados de acordo com a dose diária de arginina, calculada segundo o peso do animal. Após lenta infusão da solução e retirada da sonda, a fim de diminuir o risco de regurgitação, o rato foi mantido com a porção cefálica mais elevada que a caudal até a sua completa recuperação anestésica (COSTA *et al.*, 2003).



FIGURA 3 – Método utilizado para gavagem dos animais com as dietas enterais.

3.9 ANESTESIA

Para a realização do procedimento de gavagem, os animais foram submetidos à anestesia inalatória com éter etílico. Individualmente, cada rato foi colocado em uma campânula de vidro fechada, a qual continha divisória fenestrada que isolava o animal (superiormente) do anestésico e dejetos (inferiormente). Pela campânula de vidro, o plano anestésico foi monitorado pelos movimentos voluntários e respiratórios do animal, sendo retirado da campânula assim que apresentasse parada dos movimentos voluntários, preservando os movimentos ventilatórios.

Para o procedimento cirúrgico, após a utilização do éter etílico conforme descrito acima, foram utilizadas as drogas xilasina (10mg/Kg peso corporal) e ketamina (50mg/Kg peso corporal). Ambas foram administradas de forma intramuscular na panturrilha dos animais.

3.10 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

No período pré-operatório imediato, os animais foram submetidos a jejum de 2 horas prévias ao procedimento cirúrgico.

A equipe cirúrgica foi composta de um único cirurgião (autor) e um auxiliar.

O animal anestesiado foi fixado à mesa cirúrgica em decúbito dorsal, com elásticos de látex, colocando os quatro membros em extensão para expor o campo operatório. Em seguida, realizou-se tricotomia da região abdominal média e antisepsia. Uma laparotomia mediana de cerca de 4cm de comprimento deu acesso à cavidade abdominal.

Após realização do inventário da cavidade, foram realizadas duas secções completas do cólon, com preservação dos vasos cólicos. A primeira secção foi na flexura cólica menor, 5 cm distais à válvula ileocecal, e a segunda 3 cm acima da reflexão peritoneal do reto, no cólon descendente. A reconstrução colônica foi realizada com anastomose término-terminal, suturada em plano único total com 8 pontos interrompidos de fio monofilamentar de nylon 6.0 (mononylon® 6.0, Ethicon, São José dos Campos, SP) (Figura 4).

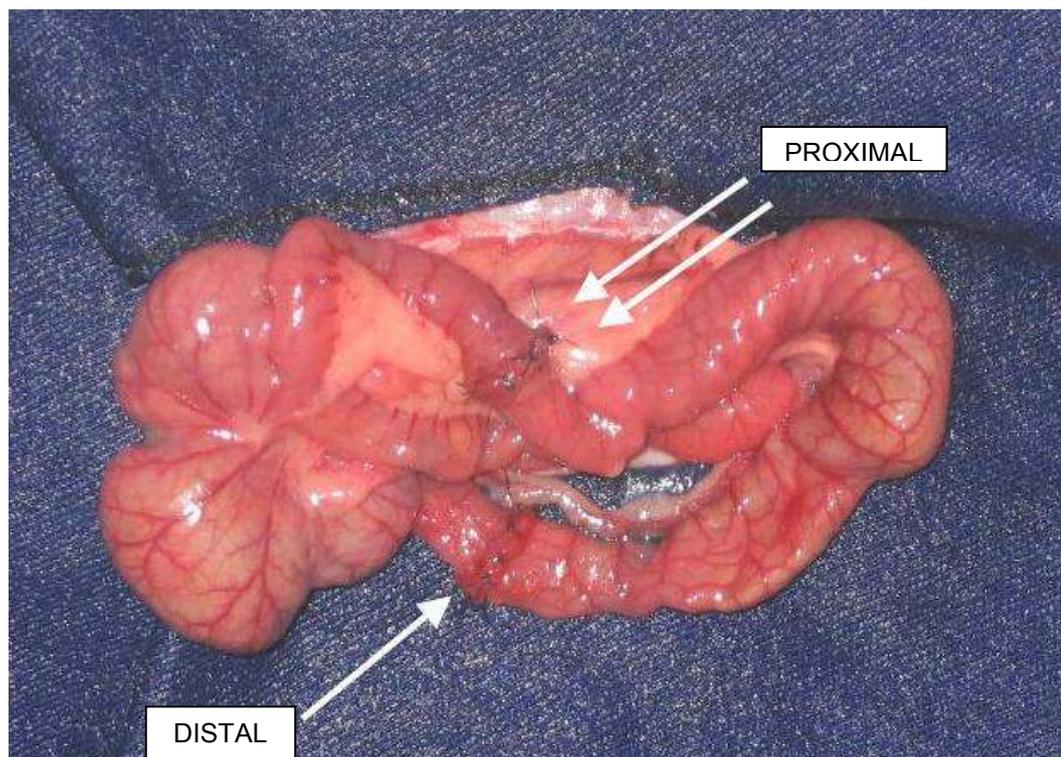


FIGURA 4 – Anastomoses colônicas – proximal e distal.

A síntese cirúrgica da parede abdominal foi realizada com fio de nylon 4-0 (Shalon, São Luis de Montes Belo, GO) em dois planos de sutura contínua (músculo-aponeurótico e cutâneo).

Ao fim do procedimento cirúrgico, os ratos foram mantidos em ar ambiente até completa recuperação. Com o intuito de evitar possíveis interferências dos outros animais ainda não operados, como mordeduras na área cruenta, ao término do ato operatório cada rato foi colocado em gaiola isolada até completa recuperação anestésica. Após a recuperação anestésica, cada rato foi recolocado em sua gaiola

de origem, onde voltou a receber, após 2 horas do procedimento, água e ração *ad libitum*.

3.11 SACRIFÍCIO DOS ANIMAIS

No 5º dia de pós-operatório, os animais foram sacrificados com dose letal de éter etílico em sistema fechado de campânula de vidro.

Imediatamente após a constatação do óbito, cada rato foi submetido à laparotomia mediana, com inspeção cuidadosa da cavidade. As duas anastomoses colônicas foram isoladas (Figura 5) e ressecadas.

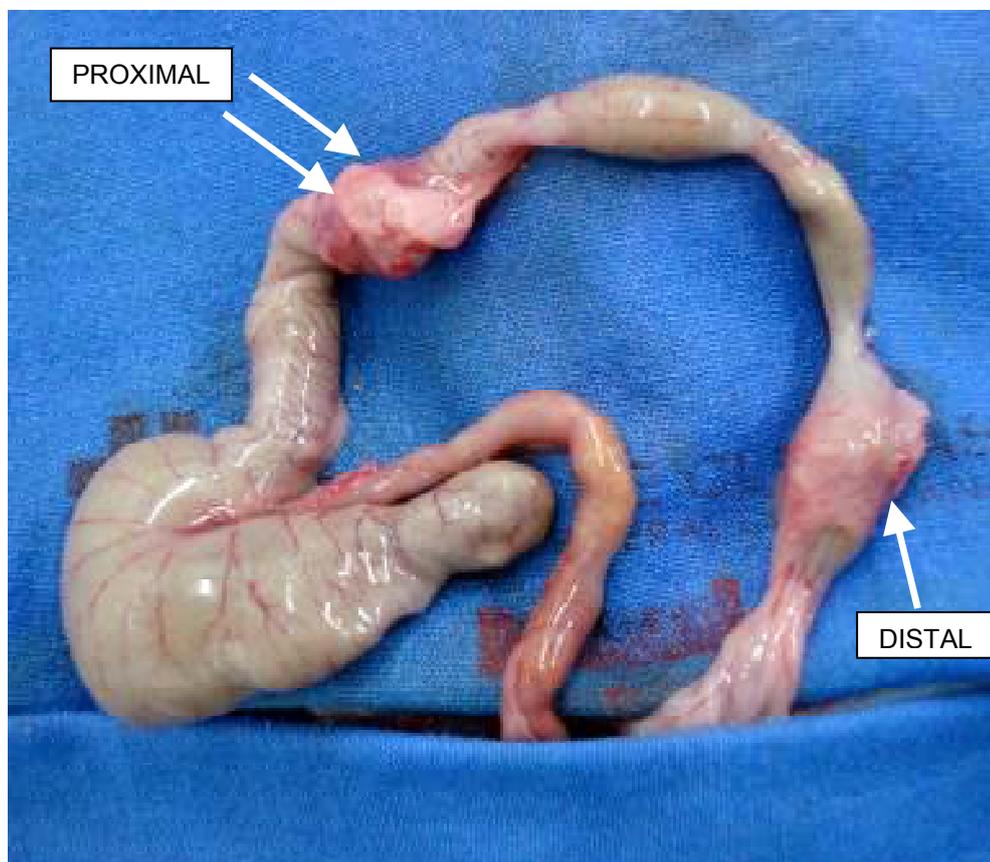


FIGURA 5 – Isolamento das anastomoses colônicas, após morte do animal.

Uma das anastomoses foi centralizada em segmento de 5 cm de comprimento, mantida em recipiente como solução salina isotônica (SSI) para teste de tração (corpo de prova) (Figura 6).



FIGURA 6 – Anastomose colônica proximal ressecada e conservada em soro fisiológico (corpo de prova).

A outra anastomose foi seccionada longitudinalmente na borda anti-mesentérica, estendida sobre pedaço de papel filtro e armazenada em frasco com formol a 10% para estudo anatomopatológico (Figura 7).



FIGURA 7 – Anastomose colônica distal seccionada e estendida sobre papel filtro.

3.12 AVALIAÇÃO TENSIOMÉTRICA

A análise mecânica dos corpos de prova foi realizada mediante teste de tração da anastomose comandado automaticamente por equipamento mecânico-eletrônico universal de ensaio de tração EMIC[®], modelo DL500MF (EMIC, São José dos Pinhais, PR) (Figura 8). Para a avaliação da força tênsil, o corpo de prova (CP) de cada animal foi fixado, manual e individualmente, em presilhas de pressão ajustáveis do equipamento de tração, de forma a conter a anastomose em sua porção média equidistante de suas extremidades. A tração desenvolveu-se com velocidade constante de 50 mm/minuto utilizando carga de 10 Kg e o equipamento permitiu sensibilidade de 50g com limite de força de 4500 Kgf até o colapso de 100% da anastomose do CP, com margem de erro de 0,5% até sua ruptura total (Figura 9).



FIGURA 8 – Equipamento universal de ensaio mecânico computadorizado EMIC®, modelo DL500MF.

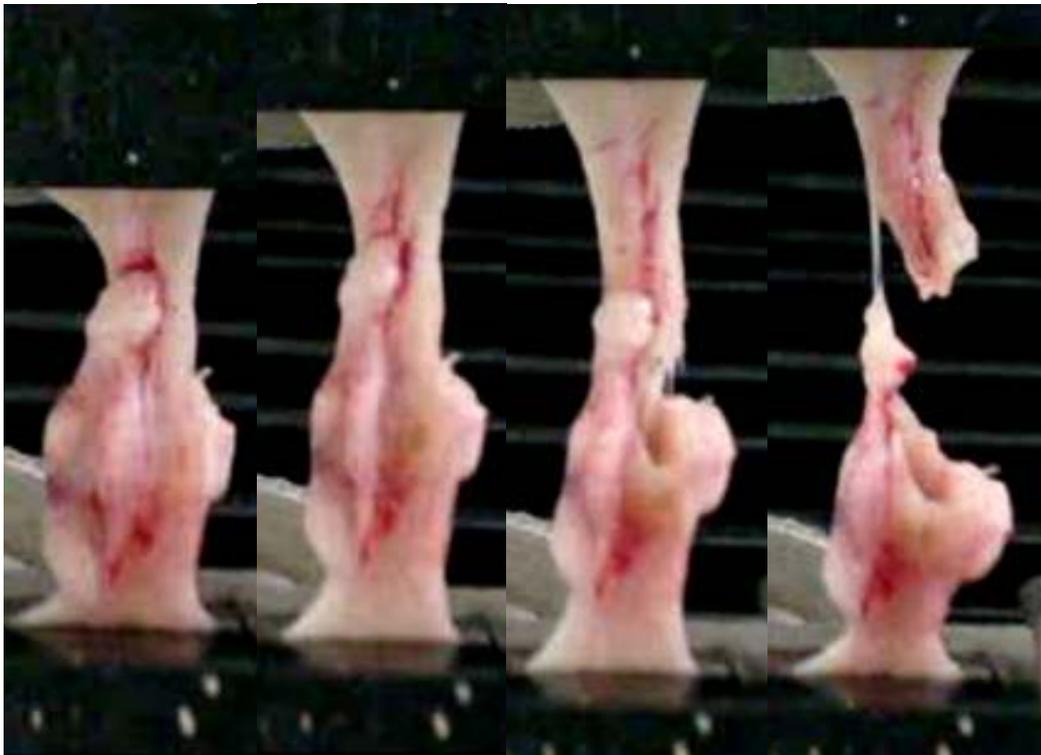


FIGURA 9 – Teste de tração de anastomose colônica de rato.

Todos os corpos de prova foram submetidos ao teste em intervalo de tempo de até duas horas após sua ressecção e a aquisição dos resultados ocorreu por meio de software TESC, versão 2.0, acoplado ao sistema, que permitiu cálculo da força máxima e da força de ruptura da anastomose de cada CP, bem como a análise gráfica do evento. A Força Máxima de Tração (FMT) foi definida como a força máxima suportada pela anastomose imediatamente antes do início da ruptura e a Força de Ruptura Total (FRT) foi considerada a força requerida para romper completamente a anastomose, sendo a unidade desses parâmetros o quilograma-força (VAN WINKLE, 1969).

3.13 DENSITOMETRIA DO COLÁGENO

As peças para avaliação histológica foram mantidas em formol a 10% para posterior estudo no Laboratório de Anatomia Patológica do Hospital de Clínicas da UFPR.

As peças foram submetidas a duas secções perpendiculares ao maior eixo da linha de sutura e, após os processos de desidratação e diafanização, foram emblocadas paralelamente em parafina. Assim, um único corte do micrótomo (4 µm de espessura) retirou três amostras da mesma anastomose. As lâminas foram coradas com Picrosirius-red F3BA (PSR).

As lâminas coradas com PSR serviram para determinação computadorizada da densitometria do colágeno, mediante microscopia de polarização. As avaliações foram realizadas considerando-se os dados obtidos a partir da média de colágeno de cinco campos diferentes da anastomose colônica de cada rato. Os cinco campos microscópicos, com aumento de 400 vezes, foram considerados representativos da área anastomótica e foram capturados utilizando-se microscópio Olympus® BX-51, com polarizador de luz (Figura 10).

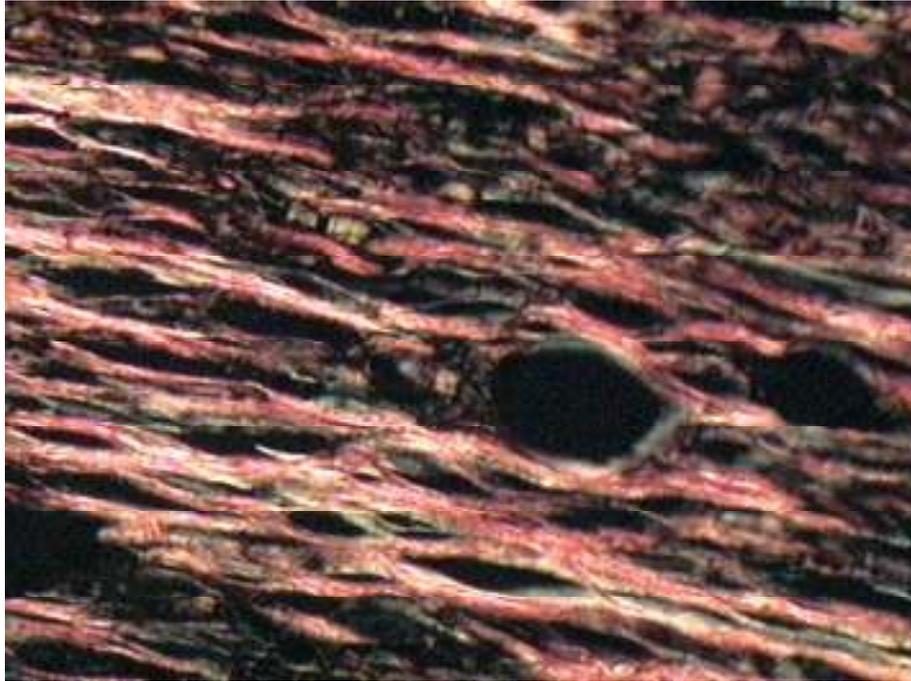


FIGURA 10 – Fotomicrografia de região anastomótica corada com *PICROSIRIUS-RED F3BA* (400X).

Conectado a uma câmera digital *Sony*[®] CCD 101 (*Sony, Tokyo, Japan*), as imagens foram transmitidas do microscópio para um monitor colorido *Trinitron Sony*[®], sendo congeladas e digitalizadas através de placas *Oculus TCX*. A seguir, foi realizada a análise das mesmas por meio do aplicativo *Image Pro-plus* versão 4.5.1.23 para Windows 98/NT/ME/200/XP Professional (Copyright 1993-2002 Media Cybernetics inc.) em computador *Pentium*[®] III 733 MHz. A calibragem do sistema foi baseada na densidade ótica dos pontos de resolução (*pixels*) que formam a imagem. Todas as lâminas foram avaliadas sob as mesmas condições de regulagem, dentro dos parâmetros exigidos pelo referido aplicativo.

No sistema RGB (*Red, Green, Blue*) as fibras colágenas mais espessas e fortemente birrefringentes apresentam-se coradas em vermelho-alaranjado (colágeno tipo I - maduro), e as fibras mais finas, dispersas, fracamente birrefringentes, coram-se de tons verdes (colágeno tipo III - imaturo) (Figura 11). Por meio desse sistema foi possível a quantificação da área ocupada por cada tipo de colágeno em cada campo pré-determinado de corte histológico (JUNQUEIRA; CORSSEMELLI; BRENTANI, 1978), bem como o cálculo do índice de maturação do colágeno - IMAc (COELHO-LEMOS *et al.*, 2004).

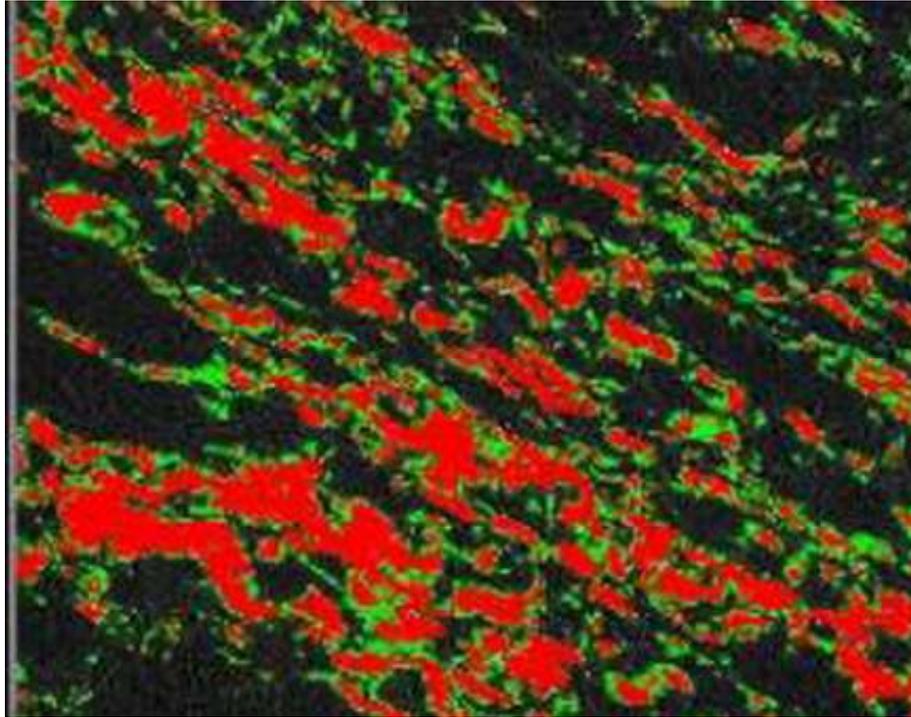


FIGURA 11 – Densitometria do colágeno – imagem digitalizada pelo software Image Pro-plus (Media Cybernetics), demonstrando áreas coradas de verde (Colágeno III) e de vermelho (Colágeno I).

O índice de maturação do colágeno (IMaC), definido como a razão entre as percentagens de colágeno tipo I e tipo III, foi determinado para os grupos PI e PC (COELHO-LEMOS *et al.*, 2004) (QUADRO 2).

$$\text{IMaC} = \frac{\% \text{ Colágeno Tipo I}}{\% \text{ Colágeno Tipo III}}$$

QUADRO 2 - Índice de Maturação do Colágeno

FONTE: COELHO-LEMOS *et al.* (2004).

LEGENDA: IMaC = Índice de Maturação do colágeno;

% = porcentagem

3.14 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O tratamento estatístico foi realizado conforme a natureza dos dados obtidos nos grupos PI e PC, sendo padronizada a medida do erro padrão da média (EP) e adotando-se nível de significância $p < 0,05$.

Para as variáveis quantitativas observou-se o pré-requisito da distribuição normal (Gaussiana) das variáveis para a escolha do teste estatístico.

Nas análises paramétricas foi utilizado o teste t de Student e nas análises não-paramétricas utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis.

Foram avaliadas, segundo esta metodologia estatística, diferenças das médias das variáveis do peso (durante todo período de estudo, além do ganho pré-operatório e perda pós-operatória), parâmetros de avaliação tensiométrica (força máxima de tração e força de ruptura total), densitometria do colágeno (área de colágeno total, tipo I e III) e IMaC entre os grupos PI e PC.

4 RESULTADOS

4.1 MORBIDADE E MORTALIDADE

Nenhum dos ratos evoluiu com deiscência anastomótica ou obstrução intestinal após a cirurgia, sendo que todos os animais apresentaram evacuações normais até o 5° PO.

Durante o procedimento cirúrgico, no dia do sacrifício, não foram observados processos infecciosos, como abscessos abdominais ou peri-anastomóticos, ou deiscências.

Não houve óbitos durante o período de estudo.

4.2 SUPLEMENTAÇÃO ENTERAL

Todos os animais foram alimentados com a mesma ração espécie específica, e a suplementação (dieta em estudo e dieta controle) foram isocalóricas e isoprotéicas. Não houve diferença significativa na quantidade de calorias e nitrogênio totais suplementados através das dietas enterais nos diferentes grupos.

A quantidade de oligoelementos suplementados foi maior no grupo PI em comparação com o grupo controle PC, já que a dieta enteral controle não continha selênio nem zinco.

4.3 PESO

Durante todo o período do estudo, a média e o erro padrão dos pesos não foram diferentes entre os grupos PI e PC ($p > 0,05$), como pode ser observado no Gráfico 1.

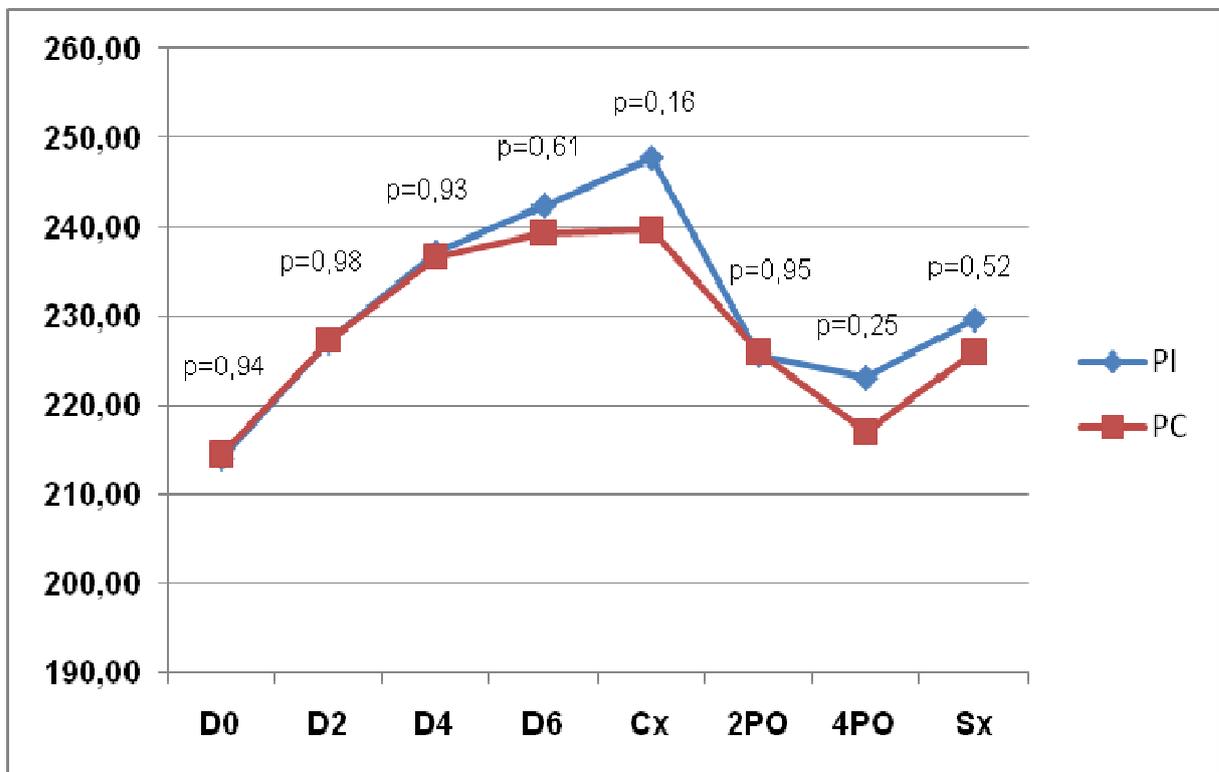


GRÁFICO 1 – EVOLUÇÃO DOS PESOS DOS ANIMAIS DOS GRUPOS PI E PC DURANTE TODO O PERÍODO DO ESTUDO (PESO EM GRAMA).

NOTA: PI – suplementação pré-operatória com a dieta em estudo. PC – suplementação pré-operatória com a dieta padrão. D0 - primeiro dia do estudo (início da suplementação pré-operatória). Cx – dia da cirurgia. Sx – dia do sacrifício. p = nível de significância estatística.

A média dos pesos dos grupos PI e PC no início do estudo, no dia do procedimento cirúrgico e no dia do sacrifício estão demonstrados na Tabela 2.

TABELA 2 – MÉDIA DOS PESOS DOS GRUPOS PI E PC NO ÍNICIO DO ESTUDO, DIA DA CIRURGIA E DIA DO SACRIFÍCIO.

PESO (g)	PI (n=12)	PC (n=12)	p
	M ± EPM	M ± EPM	
D0	214,04 ± 4,13	214,43 ± 4,69	0,94
Cx	247,74 ± 3,86	239,62 ± 4,82	0,16
Sx	229,63 ± 4,42	226,03 ± 4,21	0,52

NOTA: n – tamanho da amostra. M – média. EPM – erro padrão da média. p – nível de significância estatística. PI – suplementação pré-operatória com a dieta em estudo. PC – suplementação pré-operatória com a dieta padrão. D0 - primeiro dia do estudo (início da suplementação pré-operatória). Cx – dia da cirurgia. Sx – dia do sacrifício

O ganho de peso durante o período de suplementação pré-operatória, entre o início do estudo e o dia da cirurgia, foi significativamente maior no grupo PI do que no grupo PC, como pode ser verificado no Gráfico 2.

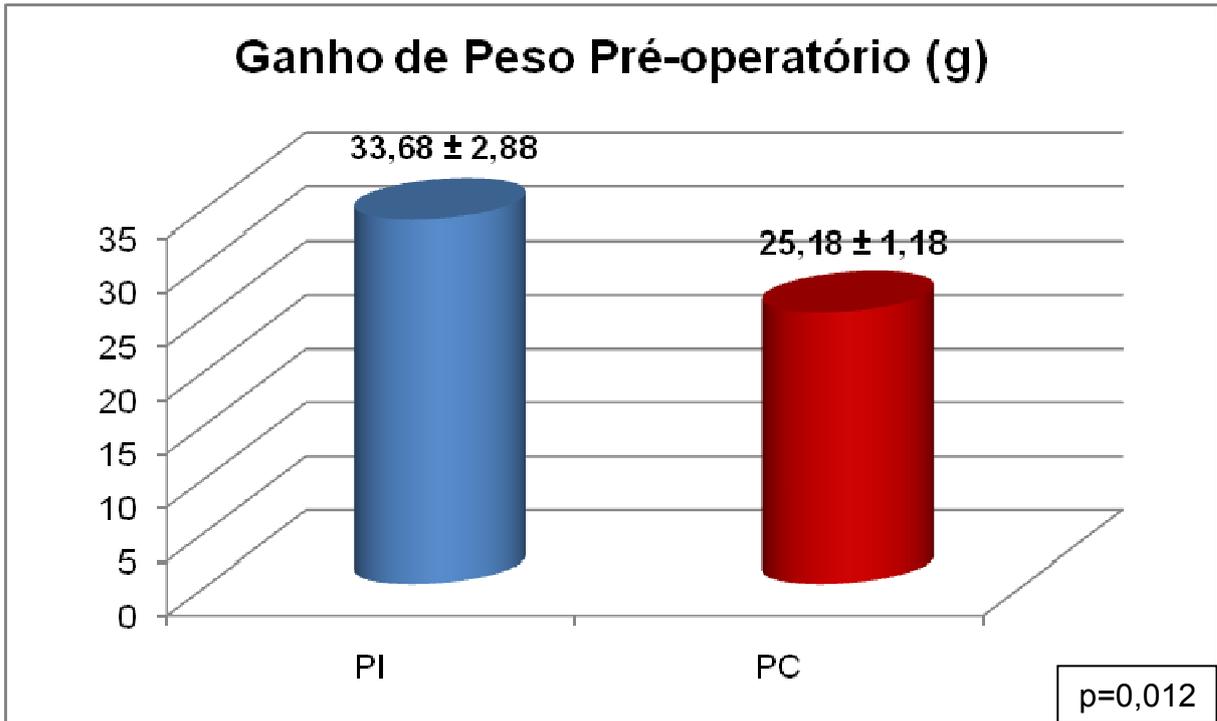


GRÁFICO 2 – MÉDIA E ERRO PADRÃO DO GANHO DE PESO DURANTE O PERÍODO DE SUPLEMENTAÇÃO PRÉ-OPERATÓRIA DOS GRUPOS PI E PC.

NOTA: PI – suplementação pré-operatória com a dieta em estudo. PC – suplementação pré-operatória com a dieta padrão. p = nível de significância estatística.

Entretanto, a perda de peso durante o período de pós-operatório (do dia da cirurgia até o dia do sacrifício) não apresentou diferença estatística entre os grupos, como pode ser analisado no Gráfico 3.

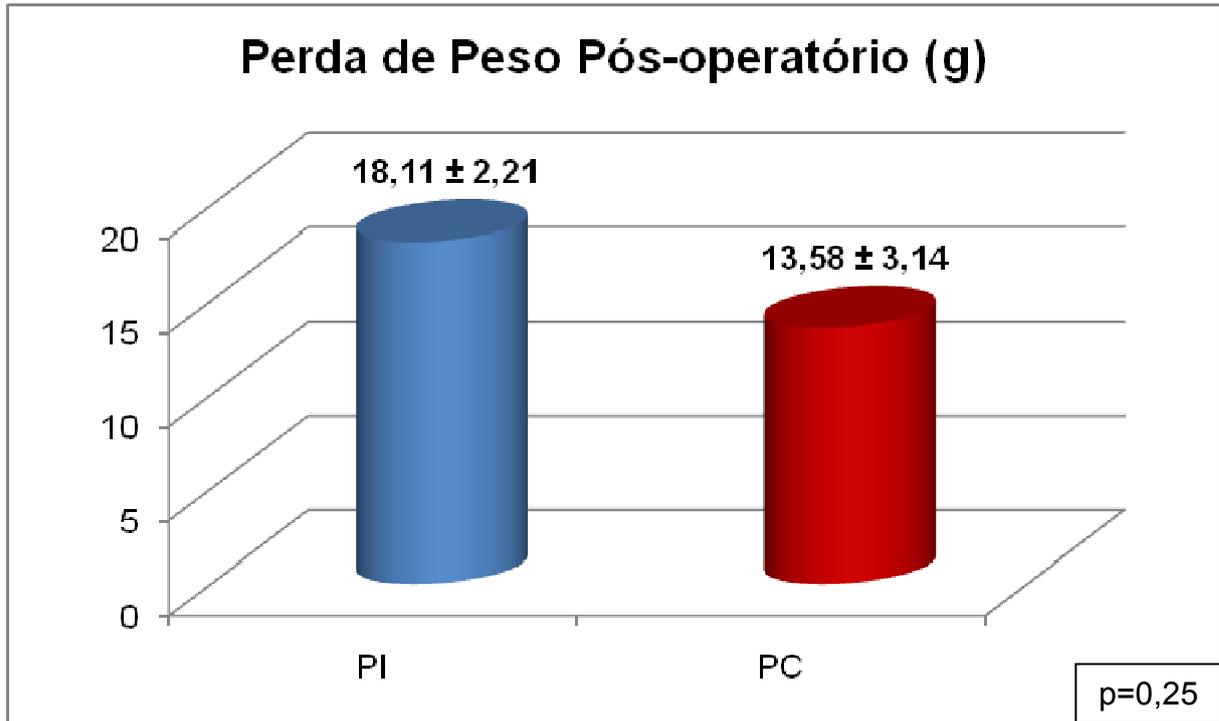


GRÁFICO 3 – MÉDIA E ERRO PADRÃO DA PERDA DE PESO DURANTE O PERÍODO PÓS-OPERATÓRIO DOS GRUPOS PI E PC.

NOTA: PI – suplementação pré-operatória com a dieta em estudo. PC – suplementação pré-operatória com a dieta padrão. p = nível de significância estatística.

4.4 AVALIAÇÃO TENSÍOMÉTRICA

O valor médio e o erro-padrão da média da força máxima de tração (FMT) do grupo de estudo (PI) foi de $0,210 \pm 0,01$ Kgf, enquanto no grupo controle (PC) foi de $0,161 \pm 0,019$ Kgf, havendo significância estatística entre os grupos ($P=0,03$) (TABELA 5).

A média e o erro-padrão da média de força de ruptura total (FRT) do grupo de estudo (PI) foi de $0,108 \pm 0,017$ Kgf, enquanto no grupo controle (PC) foi de $0,094 \pm 0,012$ Kgf, não havendo significância estatística entre os grupos ($p=0,5$) (TABELA 3).

TABELA 3 – MÉDIA E ERRO PADRÃO DAS VARIÁVEIS DE FORÇA MÁXIMA DE TRAÇÃO E FORÇA DE RUPTURA TOTAL ENTRE OS GRUPOS PI E PC.

VARIÁVEIS	PI	PC	p
	M ± EP (n=12)	M ± EP (n=12)	
FMT	0,210 ± 0,01	0,161 ± 0,019	0,03
FRT	0,108 ± 0,017	0,094 ± 0,012	0,5

NOTA: PI – suplementação pré-operatória com a dieta em estudo. PC – suplementação pré-operatória com a dieta padrão. M = média. EP = erro padrão. n = tamanho da amostra. p = nível de significância estatística. FMT = força máxima de tração. FRT = força de ruptura total.

4.5 DENSITOMETRIA DO COLÁGENO

A média e o erro padrão de área ocupada de colágeno total foram determinados nos grupos PI e PC, não havendo diferença estatística entre eles (GRÁFICO 4).

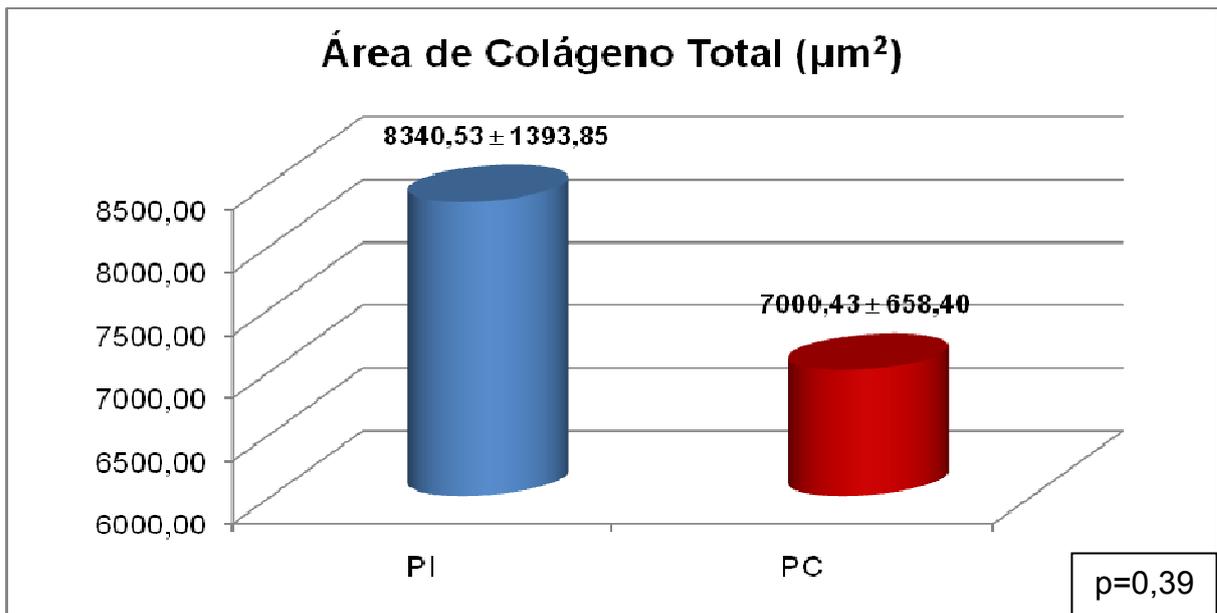


GRÁFICO 4 – MÉDIA E ERRO PADRÃO DE ÁREA OCUPADA DE COLÁGENO TOTAL NOS GRUPOS PI E PC.

NOTA: PI – suplementação pré-operatória com a dieta em estudo. PC – suplementação pré-operatória com a dieta padrão. μm^2 = micrômetro quadrado. p = nível de significância estatística.

A média e o erro padrão de área ocupada de colágeno maduro (tipo I) e imaturo (tipo III) foram determinados nos grupos PI e PC. Observou-se maior área de colágeno maduro no grupo com suplementação em estudo do que no grupo controle (TABELA 4).

TABELA 4 – MÉDIA E ERRO PADRÃO DE ÁREA OCUPADA DE COLÁGENO MADURO E IMATURO DOS GRUPOS PI E PC.

COLÁGENOS	PI (n = 12) M ± EP	PC (n = 12) M ± EP	p
Maduro	4308,02 μm^2 ± 571,92 μm^2	2342,68 μm^2 ± 340,49 μm^2	0,01
Imaturo	4032,52 μm^2 ± 832,57 μm^2	4657,75 μm^2 ± 518,56 μm^2	0,53

NOTA: PI – suplementação pré-operatória com a dieta em estudo. PC – suplementação pré-operatória com a dieta padrão. n = tamanho da amostra. M = média. EP = erro padrão. p = nível de significância estatística.

O Índice de Maturação do Colágeno (IMaC) foi estabelecido para os grupos PI e PC (GRÁFICO 5). Observou-se diferença estatística em relação às médias de IMaC à favor do grupo PI em relação ao grupo PC ($p=0,003$).

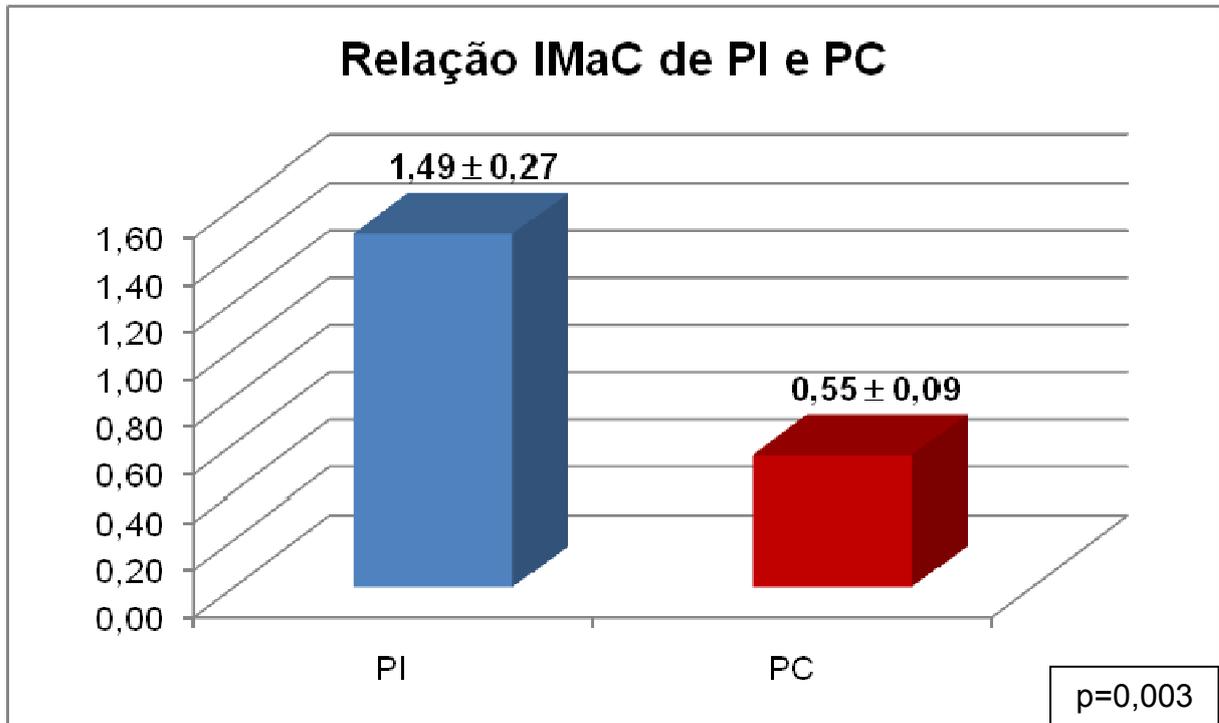


GRÁFICO 5 – MÉDIA E ERRO PADRÃO DE IMaC DOS GRUPOS PI E PC.

NOTA: PI – suplementação pré-operatória com a dieta em estudo. PC – suplementação pré-operatória com a dieta padrão. IMaC - índice de maturação do colágeno. p = nível de significância estatística.

5 DISCUSSÃO

Neste estudo foi avaliada a influência da suplementação pré-operatória com dieta enteral enriquecida com arginina, ácidos graxos ω -3, nucleotídeos e oligoelementos sobre a cicatrização de anastomoses colônicas em ratos.

5.1 DO MATERIAL E MÉTODO

A escolha do rato como modelo experimental foi feita pelo fato de apresentar boa resistência ao meio ambiente, ser de pequeno porte, fácil aquisição, manuseio e acondicionamento. Existe a facilidade da padronização de variáveis como raça e idade. Além disso, este animal possui regime de alimentação rudimentar, que permite a introdução de alterações dietéticas com certa facilidade, bem como a análise das variáveis desejadas de maneira simples e objetiva (HERMANN; WOODWARD; PULANSKI, 1964; JIBORN; AHONEN; ZEDERFELDT, 1980; LAW; ELLIS, 1990; MCCAULEY *et al.*, 1991). Devido ao seu tamanho, existe dificuldade inicial na confecção de anastomoses em estruturas de pequeno diâmetro. Porém, após treinamento, as anastomoses são perfeitamente exeqüíveis, sem auxílio de instrumentos de magnificação de imagem e com relativa agilidade (COSTA *et al.*, 2003). Todas estas vantagens levaram o autor a optar por este modelo animal.

A suplementação enteral diária foi realizada por meio de gavagem, para que fosse assegurada a administração correta das doses de dieta calculadas pelo peso do animal. São descritos problemas com a gavagem em modelos animais, como o estresse pelo próprio procedimento, ou lesões de boca, esôfago e estômago. Através de treinamento prévio, utilização de sedação e padronização do procedimento, a gavagem pôde ser realizada com segurança, sem complicações

perceptíveis. Para diminuir o risco de regurgitação, o rato foi mantido com a porção cefálica mais elevada que a caudal após a gavagem, até a completa recuperação anestésica.

A suplementação pré-operatória foi realizada por período de sete dias antes do procedimento cirúrgico. O período de sete dias de nutrição foi baseado em trabalhos da literatura, que mostraram que a nutrição enteral por 7 a 10 dias no pré-operatório reduz a incidência de complicações pós-operatórias (KLEIN *et al.*, 1997; CORISH, 1999).

A aferição do peso é parâmetro nutricional importante em vários estudos experimentais (IRVIN; HUNT, 1974a; WARD *et al.*, 1982; KARAHASANOGLU *et al.*, 1998), estando relacionado a alterações cicatriciais. O peso foi um dos parâmetros importantes utilizados neste estudo para avaliar a evolução nutricional dos grupos suplementados.

Gianotti *et al.* (2002) e Horie *et al.* (2006) conduziram estudos com suplementação enteral imunomodulada em pacientes cirúrgicos, sem desnutrição, com bons resultados em relação às complicações infecciosas e tempo de internação. Isto motivou o autor a realizar o presente estudo com ratos eutróficos, sem desnutrição.

Segundo Halsted (1887), citado por Getzen e Holloway (1966), na anastomose término-terminal do intestino somente um plano de sutura deve ser feito, já que a inversão causada pela sutura em 2 planos determina a formação de grande esporão interno, com diminuição da luz intestinal. Alguns estudos relacionaram as anastomoses intestinais construídas com sutura interrompida como produtoras de melhor cicatrização e com menor degradação de colágeno (HOWES; SOOY; HARVEY, 1929; JIBORN; AHONEN; ZEDERFELDT, 1980). Assim, esta foi a técnica utilizada para realização das anastomoses nos ratos.

Fator importante e de grande interferência no processo de cicatrização é o material utilizado na confecção da anastomose: o fio de sutura. A aplicação de fios de sutura interfere nos fenômenos biológicos envolvidos na cicatrização, daí a busca incessante de material que produza a menor reatividade biológica. Todavia não se chegou ao material ideal. Existem evidências de que os fios monofilamentares

inabsorvíveis, tal como os de polipropileno e *nylon*, provoquem menor reação tecidual e, portanto, menor interferência no processo cicatricial (KORUDA; ROLANDELLI, 1990). A utilização do fio monofilamentar de *nylon* 6-0, no presente estudo, é justificada por se desejar mínima reação inflamatória tecidual pela presença do corpo estranho, pois esta poderia interferir no processo de cicatrização, ocasionando eventuais erros na análise dos resultados.

A avaliação da anastomose no 5º PO permite a avaliação da cicatrização colônica em período favorável de observação, por meio do método utilizado neste estudo, e dentro da fase mais crítica do aparecimento de deiscências. Law e Ellis (1990) estabeleceram diferenças mecânicas entre anastomoses colônicas de ratos desnutridos e controles eutróficos, principalmente entre o 4º e 7º PO, considerando o 5º PO como o momento mais apropriado para a avaliação das forças intrínsecas envolvidas na manutenção da integridade anastomótica. Souza, Soares e Apprilli (1991) verificaram que, durante os três primeiros dias pós-operatórios, a resistência da anastomose é principalmente determinada pelas suturas. Hörgström, Haglund e Zederfeldt (1985) estabeleceram que a partir do 4º PO o colágeno começa a se acumular, passando a determinar as propriedades mecânicas da anastomose colônica. Jonsson, Jiborn e Zederfeldt (1983) e Hendriks e Mastboom (1990) consideraram o período entre 4º e 7º PO como o momento mais vulnerável de deiscências anastomóticas de cólon, devido ao déficit mecânico e à baixa qualidade de colágeno depositado.

Além disso, outras evidências influenciaram para a escolha do 5º PO. Greca *et al.* (2000) não conseguiram avaliar as forças mecânicas da anastomose em período precoce (3º PO). No estudo de Costa *et al.* (2003) houve maior número de rupturas fora da linha anastomótica, impossibilitando as análises de força tênsil, a partir do 7º PO.

De acordo com Hendriks e Mastboom (1990), a investigação da cicatrização das anastomoses intestinais, com o intuito de melhorar seus resultados, necessita de maneiras de quantificação. Este processo pode ser avaliado com parâmetros clínicos, mecânicos, bioquímicos e histológicos. A preferência é pela utilização de um método mecânico, bioquímico ou da combinação dos dois. No presente estudo,

optamos pela utilização de parâmetros clínicos, método mecânico (força tênsil) e método histológico (deposição de colágeno na linha de anastomose).

5.2 DA SUPLEMENTAÇÃO ENTERAL ENRIQUECIDA COM IMUNONUTRIENTES.

A utilização de fórmulas suplementadas com nutrientes, anteriormente considerados não essenciais, mas que, em condições de doença grave, tornam-se "condicionalmente essenciais", é referida como imunonutrição. Exemplos destes nutrientes são a glutamina, a arginina, os nucleotídeos (como o RNA), os ácidos graxos ω -3 e os oligoelementos, como o zinco e o selênio.

Diversos são os trabalhos que mostraram benefícios com a utilização de suplementação com arginina, ácidos graxos ω -3 e nucleotídeos na diminuição de complicações infecciosas e no tempo de internação, em pacientes críticos e operados (BOWER *et al.*, 1995; HEYS *et al.*, 1999; GALBÁN *et al.* 2000; TEPASKE *et al.* 2001; BRAGA *et al.*, 2002; WAITZBERG *et al.*, 2006; OKAMOTO *et al.*, 2009).

Beale, Bryg e Bihari (1999) realizaram metanálise mostrando redução significativa da taxa de infecção, dias de ventilação mecânica e tempo de hospitalização no grupo com dieta imunomodulada com a utilização de nutrição enteral imuno-enriquecida em pacientes críticos após trauma, sepse e cirurgia de grande porte.

Os efeitos de dietas enriquecidas com arginina, ácidos graxos ω -3 e Pereira (2006), nucleotídeos sobre o processo de cicatrização foram estudados por poucos autores. em estudo experimental, analisaram efeito de nutrição enteral suplementada com arginina e antioxidantes sobre o processo de cicatrização de feridas cutâneas em ratos nutridos e previamente desnutridos, em termos de avaliação morfo-estrutural, bioquímica e biologia molecular. Seus resultados mostraram que, apesar da suplementação, os animais previamente nutridos apresentaram melhores resultados cicatriciais em relação aos ratos desnutridos.

Entre os ratos desnutridos, os melhores resultados foram alcançados naqueles que receberam suplementação com arginina e antioxidantes, em relação àqueles que receberam dieta padrão.

5.3 DOS RESULTADOS

5.3.1 Morbidade e mortalidade

Em modelos animais, parâmetros clínicos para a avaliação do processo de cicatrização levam em conta a evolução pós-operatória e os achados intra-abdominais após sua morte, seja ela em meio à fase de experimentação ou provocada no término desta, para coleta de dados. Eles indicam o sucesso ou insucesso da anastomose e refletem a presença de deiscência anastomótica.

No presente estudo, não foram observadas complicações pós-operatórias como deiscência anastomótica, obstrução intestinal, abscessos abdominais ou peri-anastomóticos, em ambos os grupos, como observados em outros estudos experimentais semelhantes (COSTA *et al.*, 2003; SCHMITZ *et al.*, 2006). Também não houve óbitos durante o período de estudo.

A realização de um grupo piloto, prévio a este estudo, para treinamento de todos os passos do trabalho, principalmente os momentos críticos (sedação, gavagem, anestesia, procedimento cirúrgico) pode ter influenciado positivamente estes resultados (AHUMADA *et al.*, 2008). A experiência na linha de pesquisa em Cicatrização dos Tecidos e Medidas de Resistência, do Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da Universidade Federal do Paraná, também trouxe segurança para a execução deste trabalho.

5.3.2 Peso

A aferição do peso é parâmetro nutricional importante em vários estudos experimentais (WARD *et al.*, 1982; KARAHASANOGLU *et al.*, 1998), estando relacionado a alterações cicatriciais. A perda de peso pode interferir na evolução das anastomoses intestinais. Decréscimo ponderal durante o período perioperatório sugere certo grau de desnutrição, o que pode acarretar deficiência na cicatrização e, conseqüentemente, maior incidência de complicações anastomóticas.

O peso tem sido amplamente empregado como parâmetro clínico na avaliação do processo de cicatrização. KARAHASANOGLU *et al.* (1998) evidenciaram perda ponderal de aproximadamente 15% do peso corporal inicial em ratos alimentados com dieta hipoprotéica por 10 dias antes da realização de anastomose colônica. Com isso encontraram diminuição significativa nas pressões de ruptura nas anastomoses dos animais desnutridos. GONÇALVES *et al.* (2009) mostraram que a terapia nutricional pré-operatória por sete dias aumenta a força tênsil, assim como o percentual de deposição de colágeno maduro, de anastomoses colônicas de ratos previamente desnutridos.

No presente estudo foram incluídos animais sem desnutrição, que receberam suplementação com dieta enteral padrão (grupo PC) e enriquecida com arginina, ácidos graxos ω -3 e nucleotídeos (grupo PI). A utilização de ratos eutróficos foi motivada pelos bons resultados demonstrados por diversos autores na utilização de nutrição imunomodulada em quadros sem desnutrição, principalmente em relação à diminuição de complicações infecciosas (GIANOTTI *et al.*, 2002; HORIE *et al.*, 2006).

Em ambos os grupos (PI e PC) observou-se ganho de peso no período de suplementação pré-operatória (entre o início do estudo até a cirurgia), com diminuição do peso no período pós-operatório, e leve recuperação no dia do sacrifício. A evolução dos pesos dos animais dos grupos PI e PC, durante todo o período de estudo, não apresentou diferenças significativas ($p > 0,05$). Semelhante evolução das médias de pesos foi observado por Costa *et al.* (2003) e Pereira

(2006), em estudos experimentais. A perda de peso no pós-operatório pode ser explicada pela própria resposta orgânica ao trauma, assim como pela diminuição da ingestão de ração pela dor.

A suplementação enteral, tanto padrão quanto imunomodulada, mostrou-se eficiente em aumentar o peso pré-operatório dos ratos. Entretanto, o ganho de peso durante o período de suplementação pré-operatória foi significativamente maior no grupo PI ($33,68 \pm 2,88$ g) do que no grupo PC ($25,18 \pm 1,18$), com $p = 0,012$. Já a perda de peso durante o período de pós-operatório não apresentou diferença estatística entre os grupos ($p=0,25$). O maior ganho de peso pré-operatório no grupo PI foi inesperado, já que os grupos receberam ração espécie específica *ad libitum*, e as suplementações foram isocalóricas e isonitrogenadas, com doses proporcionais ao peso individual. Este maior aumento de peso pré-operatório pode indicar melhores reservas de nutrientes, principalmente daqueles considerados condicionalmente essenciais e oligoelementos, resultando em maior força máxima de tração e maior deposição de colágeno maduro no grupo PI. Entretanto, no presente estudo não foram realizadas medidas diretas de nutrientes individuais, ou de seus metabólitos, para evidenciar diferenças entre os grupos.

A suplementação enteral, tanto padrão quanto enriquecida com imunonutrientes, não foi capaz de manter o peso dos ratos no pós-operatório imediato.

5.3.3 Avaliação tensiométrica

As forças mecânicas envolvidas nas anastomoses refletem de forma objetiva a integridade da mesma (KORUDA; ROLANDELLI, 1990). Essas variáveis podem ser determinadas de diferentes formas. A avaliação da força tênsil da anastomose é freqüentemente utilizada em estudos experimentais, com resultados que refletem com elevada precisão as propriedades biofísicas do tecido.

Van Winkle (1969) definiu dois tipos de força para a avaliação mecânica de uma ferida: Tensão (quantificação da carga aplicada para rompê-la, considerando a dimensão do tecido analisado) e Força de Ruptura (força necessária para rompê-la).

Equipamentos eletrônicos informatizados, que realizam teste de tração da anastomose, apresentam erros mínimos de leitura e são recomendados em investigações experimentais de cicatrização intestinal e de outras feridas cirúrgicas (NARESSE *et al.*, 1987).

Alguns imunonutrientes, avaliados isoladamente, mostraram resultados positivos ao processo de cicatrização (SHASHIDHARAN *et al.*, 1999; BINNEBÖSEL *et al.*, 2009). Entretanto, modelos experimentais para a análise dos efeitos das dietas imunomoduladas no processo de cicatrização do trato digestivo, através de métodos mecânicos, ainda são escassos.

No presente estudo, a avaliação mecânica das anastomoses colônicas mostrou maior força máxima de tração no grupo suplementado com imunonutrientes do que no grupo controle, com significância estatística ($p=0,03$). Como as dietas enterais utilizadas foram isocalórica e isonitrogenadas, acredita-se que esta diferença tenha acontecido por ação dos imunonutrientes presentes na dieta enriquecida, levando a um processo de cicatrização mais eficiente. A melhora na força máxima de tração pode ter ocorrido devido ao aumento da quantidade de colágeno maduro na linha de anastomose, ou mesmo pela modulação do sistema imune no pós-operatório.

Em relação à força de ruptura total, resultados similares foram encontrados entre os grupos PI e PC. Entretanto, este parâmetro isolado de resistência da anastomose não deve ser superestimado, pois possui menor sensibilidade em perceber pequenas diferenças em tecidos heterogêneos, como segmentos intestinais (COSTA *et al.*, 2003).

5.3.4 Densitometria do colágeno

Por muito tempo, a análise do colágeno se resumiu à análise da quantificação de hidroxiprolina (aminoácido característico da proteína colágena na maioria dos tecidos). Entretanto, vários tipos de colágeno apresentam quantidades diferentes de hidroxiprolina (MILLER, 1973). Um exemplo são as cadeias alfa do colágeno tipo III (imaturo) que apresentam mais resíduos de hidroxiprolina do que as cadeias alfa de colágeno tipo I (maduro).

Recentemente, maior ênfase tem sido dada ao uso de métodos qualitativos de avaliação do colágeno (HENDRICKS; MASTBOOM, 1990; RABAU *et al.*, 1995). A coloração de picosírius com microscopia polarizada diferencia as fibras colágenas de acordo com sua birrefringência; as fibras de maior espessura (colágeno tipo I) aparecem fortemente birrefringentes e as fibras de menor espessura (colágeno tipo III) aparecem fracamente birrefringentes. Esta diferenciação de cores permite a análise qualitativa das fibras colágenas, obtendo-se a densitometria de fibras maduras (colágeno tipo I) e imaturas (colágeno tipo III) que, em última análise, reflete a proporção de entrelaçamento das fibras (SWEAT; PUCHTLER; ROSENTHAL, 1964; JUNQUEIRA; MONTES; SANCHES, 1982).

No presente trabalho, a quantidade total de colágeno na anastomose colônica não foi diferente entre os grupos estudo e controle ($p=0,39$). PEREIRA (2006), em estudo experimental, analisaram efeito de nutrição enteral suplementada com arginina, ácidos graxos ω -3 e nucleotídeos sobre o processo de cicatrização de feridas cutâneas em ratos. A quantidade de colágeno total também foi semelhante entre os grupos com suplementação padrão e imunomodulada.

Entretanto, quando se analisaram os diferentes tipos de colágeno, observou-se predominância do colágeno tipo I (maduro) sobre o tipo III (imaturo) no grupo suplementado com dieta enriquecida com arginina, ácidos graxos ω -3 e nucleotídeos. Já o grupo controle apresentou menores quantidades de colágeno tipo I em relação ao tipo III. Quando se comparou a quantidade de colágeno maduro entre os grupos PI e PC, foram observadas concentrações significativamente

maiores no primeiro grupo ($p=0,01$). O índice de maturação do colágeno (IMaC) foi significativamente maior no grupo PI ($1,49 \pm 0,27$) do que no grupo PC ($0,55 \pm 0,09$), com $p=0,003$.

As características qualitativas do colágeno depositado são mais importantes para o suporte estrutural da anastomose do que sua concentração tecidual (HENDRIKS; MASTBOOM, 1990). O aumento de força tênsil é mais relacionado com o colágeno I do que com o colágeno III. Doillon *et al.* (1985) evidenciaram que a deposição e o remodelamento das fibras de colágeno I são os principais determinantes do ganho de força da área cicatrizada, exercendo influência sobre a integridade anastomótica.

Jonsson, Jiborn e Zederfeldt (1983) e Hendriks e Mastboom (1990) estabeleceram a correlação clínica dessas evidências. Verificaram que havia um período mais vulnerável para deiscência anastomótica (entre 4º e 7º PO), que correspondia aos momentos de déficit mecânico e de baixa qualidade de colágeno depositado na anastomose.

Waitzberg *et al.* (2006), em metanálise recente, haviam observado que as fístulas anastomóticas foram 46% menos prevalentes quando a suplementação com arginina, ácidos graxos ω -3 e nucleotídeos fez parte do tratamento pré-operatório, em pacientes submetidos à cirurgia eletiva. Estes indícios de melhora no processo de cicatrização foram reforçados com os achados do presente estudo, mediante aumento na quantidade de colágeno maduro e melhora nos parâmetros mecânicos de anastomoses colônicas de ratos suplementados com imunonutrientes.

5.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

Benefícios com a utilização de fórmulas de suplementação enteral enriquecidas com arginina, ácidos graxos ω -3, nucleotídeos e oligoelementos foram demonstrados em diversos estudos. Melhores resultados em relação à diminuição

de complicações infecciosas pós-operatórias, de tempo de ventilação mecânica e hospitalização, e de custos já foram observados. Entretanto, trabalhos recentes questionam estes resultados positivos.

Poucos trabalhos experimentais foram realizados com método para avaliação do processo de reparo tecidual. Assim, o presente estudo teve como objetivo a avaliação da influência da suplementação pré-operatória com dieta enteral enriquecida com arginina, ácidos graxos ω -3, nucleotídeos e oligoelementos sobre a cicatrização de anastomoses colônicas em ratos, mediante análise tensiométrica e densitometria do colágeno. Os resultados obtidos mostraram melhora na quantidade de colágeno maduro e nos parâmetros mecânicos das anastomoses intestinais.

Portanto, os efeitos das fórmulas imunomoduladas sobre o processo de cicatrização ainda podem ser avaliados por meio de outros métodos. As possibilidades são várias:

- terapia imunomoduladora peri-operatória;
- modelos de desnutrição e re-nutrição;
- sepse;
- imunoistoquímica;
- dosagem de macro e micronutrientes, assim como de seus metabólitos.

6 CONCLUSÕES

A suplementação pré-operatória com dieta enteral enriquecida com arginina, ácidos graxos ômega-3, nucleotídeos e oligoelementos melhora os parâmetros de avaliação de cicatrização de anastomoses colônicas de ratos nutridos. Quando comparada à suplementação com dieta enteral padrão, associa-se:

- a) Ao aumento da força máxima de tração das anastomoses colônicas, no 5º PO;
- b) Ao aumento da quantidade de colágeno tipo I (maduro), sem aumento da quantidade de colágeno total nas anastomoses colônicas, no 5º PO;
- c) À ocorrência similar de complicações e óbitos, até o 5º PO.

REFERÊNCIAS

ABD-EL-ALEEM, S. A.; FERGUSON, M. W. J.; APPLETON, I.; KAIRSINGH, S.; JUDE, E. B.; JONES, K.; MCCOLLUM, C. N.; IRELAND, G. W. Expression of nitric synthase isoforms and arginase in normal human skin and chronic venous leg ulcers. **J Pathol** 2000;191:434-42.

AGREN, M. S.; ANDERSEN, L.; HEEGAARD, A. M.; JORGENSEN, L. N. Effect of parenteral zinc sulfate on colon anastomosis repair in the rat. **Int J Colorectal Dis.** 2008 Sep;23(9):857-61.

AGREN, M. S.; FRANZEN, L. Influence of zinc deficiency on breaking strength of 3-week-old skin incisions in the rat. **Acta Chir Scand**, v.156, n.10, Oct, p.667-70. 1990.

AHUMADA, N. G.; BRANCO, A. B.; OKAWA, L.; ONO, M. C. C; CAMPOS, A. C. L. Influência da dieta enteral suplementada com arginina e antioxidantes sobre parâmetros nutricionais em ratos. **Livro de resumos do 16º EVINCI e 1º EINTI** 2008; Ciências da Saúde:244.

ALBINA, J. E. Nutrition and wound healing. **JPEN J Parenter Enteral Nutr** 1994; 18:367.

AMORIM, E.; MATIAS, J. E. F.; COELHO, J. C. U.; CAMPOS, A. C. L.; STAHLKE JÚNIOR, H. J.; TIMI, J. R. R.; ROCHA, L. C. A.; MOREIRA, A. T. R.; RISPOLI, D. Z.; FERREIRA, L. M. Topic use of aqueous extract of *Orbignya phalerata* (babassu) in rats: analysis of it's healing effect. **Acta Cir Bras**;21(supl.2):67-76, 2006.

ANGSTWURM, M. W.; ENGELMANN, L.; ZIMMERMANN, T.; LEHMANN, C.; SPES, C. H.; ABEL, P.; STRAUSS, R.; MEIER-HELLMANN, A.; INSEL, R.; RADKE, J.; SCHÜTTLER, J.; GÄRTNER, R. Selenium in Intensive Care (SIC): results of a prospective randomized, placebo-controlled, multiple-center study in patients with severe systemic inflammatory response syndrome, sepsis, and septic shock. **Crit Care Med.** 2007 Jan;35(1):118-26.

ANGSTWURM, M. W.; SCHOTTDORF, J.; SCHOPOHL, J.; GAERTNER, R. Selenium replacement in patients with severe systemic inflammatory response syndrome improves clinical outcome. **Crit Care Med**. 1999 Sep;27(9):1807-13.

ARDAWI, M. S. M.; NEWSHOLME, E. A. Fuel utilization in colonocytes of the rat. **Biochem J**. 231:713-719, 1985.

ATKINSON, S.; SIEFFERT, E.; BIHARI, D. A prospective, randomized, double-blind, controlled clinical trial of enteral immunonutrition in the critically ill. Guy's Hospital Intensive Care Group. **Crit Care Med**. 1998 Jul;26(7):1164-72.

BABINEAU, T. J.; BORLASE, B. C.; BLACKBURN, G. L. Applied Total Parental Nutrition in the Critically Ill. In: RIPPE, J. M.; IRWIN, R. S.; ALPERT, J.S.; FINK, M. P. **Intensive Care Medicine**. Little, Brown and Co, Boston, 1991, p. 1675.

BALDEZ, R. N.; MALAFAIA, O.; CZECZKO, N. G.; MARTINS, N. L. P.; FERREIRA, L. M.; RIBAS, C. A. P. M.; SALLES JÚNIOR, G.; DEL CLARO, R. P.; SANTOS, L. O. M.; GRAÇA NETO, L.; ARAÚJO, L. R. R. Healing of colonic anastomosis with the use of extract aqueous of *Orbignya phalerata* (Babassu) in rats. **Acta Cir Bras**;21(supl.2):31-38, 2006.

BALLANTYNE, G. H. Intestinal suturing: review of the experimental foundations for traditional doctrines. **Dis Colon Rectum**; 26:836-843, 1983.

BARBUL, A.; FISHEL, R. S.; SHIMAZU, S.; WASSERKRUG, H. L.; YOSHIMURA, N. N.; TAO, R. C.; EFRON, G. Intravenous hyperalimentation with high arginine levels improves wound healing and immune function. **J Surg Res**, v.38, n.4, Apr, p.328-34. 1985.

BEALE, R. J.; BRYG, D. J.; BIHARI, D. J. Immunonutrition in the critically ill: a systematic review of clinical outcome. **Crit Care Med**. 1999 Dec;27(12):2799-805.

BERNHARDT, J. A. **Influência da desnutrição na cicatrização da anastomose colônica em ratos toxêmicos**. Tese (doutorado em Clínica Cirúrgica), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

BEZERRA, J. A. F.; CAMPOS, A. C. L.; VASCONCELOS, P. R. L.; NICARETA, J. R.; RIBEIRO, E. R.; SEBASTIÃO, A. P. M.; URDIALES, A. I.; MOREIRA, M.; BORGES, A. M. Extract of *Passiflora edulis* in the healing of colonic anastomosis in rats: a tensiometric and morphologic study. **Acta Cir Bras**;21(supl.3):14-25, 2006.

BINNEBÖSEL, M.; GROMMES, J.; KOENEN, B.; JUNGE, K.; KLINK, C. D.; STUMPF, M.; OTTINGER, A. P.; SCHUMPELICK, V.; KLINGE, U.; KRONES, C. J. Zinc deficiency impairs wound healing of colon anastomosis in rats. **Int J Colorectal Dis**. 2009 Oct 27

BONIN, E. A.; CAMPOS, A. C.; COELHO, J. C.; MATIAS, J. E.; MALAFAIA, O.; JONASSON, T. H. Effect of pantoprazole administered subcutaneously on the healing of sutured gastric incisions in rats. **Eur Surg Res**. 2005 Jul-Aug;37(4):250-6.

BLOMQUIST, P.; JIBORN, H.; ZEDERFELDT, B. The effect of relative bowel rest on collagen metabolism and suture holding capacity in the colonic wall. **Res. Exp. Med. Berl**. 184:221-6, 1984.

BOUTARD, V.; HAVOUI, R.; FOUQUERAY, B.; PHILIPPE, C.; MOULINOX, J. P.; BAUD, L. Transforming growth factor-beta stimulates arginase activity in macrophages. Implications for the regulation of macrophage cytotoxicity. **J Immunol**, v.155, n.4, Aug 15, p.2077-84. 1995.

BOWER, R. H.; CERRA, F. B.; BERSHADSKY, B.; LICARI, J. J.; HOYT, D. B.; JENSEN, G. L.; VAN BUREN, C. T.; ROTHKOPF, M. M.; DALY, J. M.; ADELSBERG, B. R. Early enteral administration of a formula (Impact) supplemented with arginine, nucleotides, and fish oil in intensive care unit patients: results of a multicenter, prospective, randomized, clinical trial. **Crit Care Med**. 1995 Mar;23(3):436-49.

BRAGA, M.; GIANOTTI, L.; NESPOLI, L.; RADAELLI, G.; DI CARLO, V. Nutritional approach in malnourished surgical patients: a prospective randomized study. **Arch Surg**. 2002a Feb;137(2):174-80.

BRAGA, M.; GIANOTTI, L.; RADAELLI, G.; VIGNALI, A.; MARI, G.; GENTILINI, O.; DI CARLO, V. Perioperative immunonutrition in patients undergoing cancer surgery: results of a randomized double-blind phase 3 trial. **Arch Surg**. 1999 Apr;134(4):428-33.

BRAGA, M.; GIANOTTI, L.; VIGNALI, A.; DI CARLO, V. Immunonutrition in gastric cancer surgical patients. **Nutrition**. 1998 Nov-Dec;14(11-12):831-5.

BRAGA, M.; GIANOTTI, L.; VIGNALI, A.; DI CARLO, V. Preoperative oral arginine and n-3 fatty acid supplementation improves the immunometabolic host response and outcome after colorectal resection for cancer. **Surgery**. 2002b Nov;132(5):805-14.

BRASKÉN, P. Healing of experimental colon anastomosis. **Eur J Surg Suppl**. 1991;(566):1-51.

BRASKÉN, P.; RENVALL, S.; SANDBERG, M. Fibronectin and collagen gene expression in healing experimental colonic anastomoses. **Br J Surg**. 78(9):1048-1052, 1991.

BROUGHTON, G. 2ND; JANIS, J. E.; ATTINGER, C. E. Wound healing: an overview. **Plast Reconstr Surg** 2006; 117(7 Suppl):1e-S-32e-S.

BROUGHTON, G. 2ND; JANIS, J. E.; ATTINGER, C. E. The basic science of wound healing. **Plast Reconstr Surg**. 2006 Jun;117(7 Suppl):12S-34S. Review.

CAMPOS, A. C.; GROTH, A. K.; BRANCO, A. B. Assessment and nutritional aspects of wound healing. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**. 2008 May;11(3):281-8.

CARREL, A. The treatment of wounds. **JAMA**. 55:2148, 1910.

CASTILLO, L.; SÁNCHEZ, M.; VOGT, J.; CHAPMAN, T. E.; DEROJAS-WALKER, T. C.; TANNENBAUM, S. R.; AJAMI, A. M.; YOUNG, V. R. Plasma arginine, citrulline, and ornithine kinetics in adults, with observations on nitric oxide synthesis. **Am J Physiol**, v.268, n.2 Pt 1, Feb, p.E360-7. 1995.

CHOWCAT, N. L.; SAVAGE, F. J.; HEMBRY, R. M., BOULOS, P. B. Role of collagenase in colonic anastomoses: A reappraisal. **Br J Surg** 75: 330,1988.

CLARK, A. H. Effect of diet on healing of wounds. **Bull Johns Hopkins Hosp**. 30:117, 1919.

CLARK, R. A. F. Wound repair. In: KUMAR, ROBBINS, COTRAN. **Pathologic Basis of Disease**, 7th ed., Ed. Saunders, p.112, 2005.

COELHO-LEMONS, I. C.; CAMPOS, A. C.; ALMEIDA, M. DE; SCHÜLER, S. L.; GURMINI, J.; MALAFAIA, O.; ANDRADE, D. F. In utero malnutrition influences wound healing of newborn rats as measured by tensile strength and collagen deposition. **JPEN J Parenter Enteral Nutr.** 2004 Jul-Aug;28(4):241-4.

CONSTANTINE, V. S.; MOWRY, R. W. Selective staining of human dermal collagen: the use of picosirius red F3BA with polarization microscopy. **J Invest Dermat.** 50(5):419-24, 1968.

CORISH, C. A. Pre-operative nutritional assessment. **Proc Nutr Soc.** 1999 Nov;58(4):821-9.

CORREA NETO, M. P.; CAMPOS, A. C. L.; BRANCO, A. B.; MATIAS, J. E. F. Efeito da suplementação dietética da arginina na cicatrização das anastomoses colônicas em ratos. **ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva**, v. 22, p. 7-14, 2009.

CORREIA, M. I.; CAMPOS, A. C.; ELAN Cooperative Study. Prevalence of hospital malnutrition in Latin America: the multicenter ELAN study. **Nutrition.** 2003 Oct;19(10):823-5.

COSTA, M. A.; CAMPOS, A. C.; COELHO, J. C.; BARROS, A. M. DE; MATSUMOTO, H. M. Oral glutamine and the healing of colonic anastomoses in rats. **JPEN J Parenter Enteral Nutr.** 2003 May-Jun;27(3):182-5; discussion 185-6.

CRONIN, K.; JACKSON, D. S.; DUMPHY, J. E. Changing bursting strength and collagen content of the healing colon. **Surg Gynecol Obstet.** 126(4):747-53, 1968.

DALY, J. M.; VARS, H. M.; DUDRICK, S. J. Effects of protein depletion on strength of colonic anastomoses. **Surg Gynecol Obstet.** 134(1):15-21, 1972.

DAYAN, D.; HISS, Y.; HIRSHBERG, A.; BUBIS, J. J.; WOLMAN, M. Are the polarization colors of Picrosirius red-stained collagen determined only by the diameter of the fibers? **Histochemistry**. 93:27-29, 1989.

DEGEORGE, G. L.; HECK, D. E.; LASKIN, J. D. Arginine metabolism in keratinocytes and macrophages during nitric oxide biosynthesis: multiple modes of action of nitric oxide synthase inhibitors. **Biochem Pharmacol**. 1997; 54:103-12.

DEMETRIADES, H.; BOTSIOS, D.; KAZANTZIDOU, D.; SAKKAS, L.; TSALIS, K.; MANOS, K.; DADOUKIS, I. Effect of early postoperative enteral feeding on the healing of colonic anastomoses in rats. Comparison of three different enteral diets. **Eur Surg Res**. 2000;32(5):322.

DESNEVES, K. J.; TODOROVIC, B. E.; CASSAR, A.; CROWE, T. C. Treatment with supplementary arginine, vitamin C and zinc in patients with pressure ulcers: A randomised controlled trial. **Clinical Nutrition**. 2005;24:979-87.

DOILLON, C. J.; DUNN, M. G.; BENDER, E., SILVER, F. H. Collagen fiber formation in repair tissue: development of strength and toughness. **Coll Relat Res** 5:481,1985.

ELIA, M.; LUNN, P. G. The use of glutamine in the treatment of gastrointestinal disorders in man. **Nutrition**. 13(7/8):743-7, 1997.

ELWYN, D. H.; BRYNA-BROWN, C. W.; SHOEMAKER, W. C. Nutritional aspects of body water dislocation in postoperative and depleted patients. **Ann Surg** 1975; 182:76.

EVOY, D.; LIEBERMAN, M. D.; FAHEY, T. J. 3RD; DALY, J. M. Immunonutrition: the role of arginine. **Nutrition**, v.14, n.7-8, Jul-Aug, p.611-7. 1998.

FANSLOW, W. C.; KULKARNI, A. D.; VAN BUREN, C. T.; RUDOLPH, F. B. Effect of nucleotide restriction and supplementation on resistance to experimental murine candidiasis. **JPEN J Parenter Enteral Nutr**. 1988 Jan-Feb;12(1):49-52.

FAST, J.; NELSON, C.; DENNIS, C. Rate of gain in strength in sutured abdominal wall wounds. **Surg Gynecol Obstet**. 84:685-9, 1947.

FARRERAS, N.; ARTIGAS, V.; CARDONA, D.; RIUS, X.; TRIAS, M.; GONZÁLEZ, J. A. Effect of early postoperative enteral immunonutrition on wound healing in patients undergoing surgery for gastric cancer. **Clin Nutr**. 2005 Feb;24(1):55-65.

FIGUEIREDO, J. A.; PETROIANU, A.; CORREIA, M. I. T. D.; CASTRO JR, H. A.; ABRANTES, M. M.; SPESCHIT, W.; SILVEIRA, R. O. P.; NUNES, C. B. Efeito da suplementação nutricional com glicina e glutamina, por via oral, na cicatrização colônica em coelhos. **Rev Col Bras Cir**;36(2):148-151, mar.-abr. 2009.

FRANK, S.; KAMPFER, H.; WETZLER, C.; PFEILSCHIFER, J. Nitric oxide drives skin repair: novel functions of an established mediator. **Kidney Int**. 2002;61:882-8.

FURST, P. New developments in glutamine delivery. **J Nutr**. 131:2565S-2568S, 2001.

GALBÁN, C.; MONTEJO, J. C.; MESEJO, A.; MARCO, P.; CELAYA, S.; SÁNCHEZ-SEGURA, J. M.; FARRÉ, M.; BRYG, D. J. An immune-enhancing enteral diet reduces mortality rate and episodes of bacteremia in septic intensive care unit patients. **Crit Care Med**. 2000 Mar;28(3):643-8.

GETZEN, L. C.; HOLLOWAY, C. K. Comparative study of intestinal anastomotic healing in inverted and everted closures. **Surg Gynecol Obstet**. 123:1219-1227, 1966.

GIANOTTI, L.; BRAGA, M.; NESPOLI, L.; RADAELLI, G.; BENEDUCE, A.; DI CARLO, V. A randomized controlled trial of preoperative oral supplementation with a specialized diet in patients with gastrointestinal cancer. **Gastroenterology**. 2002 Jun;122(7):1763-70.

GOLIGHER, J. C.; GRAHAM, N. G.; DOMBAL, F. T. DE. Anastomotic dehiscence after anterior resection of rectum and sigmoid. **Br J Surg** 57(2):109-18, 1970.

GOMES, C. S.; CAMPOS, A. C. L.; TORRES, O. J. M.; VASCONCELOS, P. R. L.; MOREIRA, A. T. R.; TENÓRIO, S. B.; TÂMBARA, E. M.; SAKATA, K.; MORAES JÚNIOR, H.; FERRER, A. L. S. Passiflora edulis extract and the healing of abdominal wall of rats: morphological and tensiometric study. **Acta Cir Bras**;21(supl.2):9-16, 2006.

GONÇALVES, C. G.; GROTH, A. K.; FERREIRA, M.; MATIAS, J. E.; COELHO, J. C.; CAMPOS, A. C. Influence of preoperative feeding on the healing of colonic anastomoses in malnourished rats. **JPEN J Parenter Enteral Nutr.** 2009 Jan-Feb;33(1):83-9.

GRAHAM, M. F.; DRUCKER, D. E.; DIEGELMANN, R. F.; ELSON, C. O. Collagen synthesis by human intestinal smooth muscle cells in culture. **Gastroenterology** 92:400, 1987.

GRECA, F. H.; BIONDO-SIMÕES, M. L. P.; IOSHI, S. O.; SANTOS, E. A. A.; CHIN, E. W. K.; TAWIL, I. I. E.; STALBSCHMIDT, F. L. Cicatrização de anastomoses do colon esquerdo com doença inflamatória. Estudo experimental em ratos. **Acta Cir Bras.** 15:41S-46S, 2000.

HALL, J. C.; HELL, K.; McCAULEY, R. Glutamine. **Br J Surg.** 83:305-12, 1996.

HALSTED, W. S. Circular suture of the intestine: an experimental study. **Am J Med. Sci.** 94:436-461, 1887.

HARDY, G.; MENENDEZ, A. M.; MANZANARES, W. Trace element supplementation in parenteral nutrition: pharmacy, posology, and monitoring guidance. **Nutrition.** 2009 Nov-Dec; 25(11-12):1073-84.

HARVEY, S. C.; HOWES, E. L. Effect of high protein diet on the velocity of growth of fibroblasts in the healing wound. **Ann Surg.** 91:641-6, 1930.

HAWLEY, P. R. Collagenase activity and colonic anastomotic breakdown. **Br J Surg** 57:256-61, 1970.

HAYDOCK, D. A.; HILL, G. L. Impaired wound healing in surgical patients with varying degrees of malnutrition. **JPEN J Parenter Enteral Nutr** 1986; 10:550.

HELMINEN, H.; RAITANEN, M.; KELLOSALO, J. Immunonutrition in elective gastrointestinal surgery patients. **Scand J Surg.** 2007;96(1):46-50.

HENDRIKS, T.; MASTBOOM, W. J. Healing of experimental intestinal anastomoses. Parameters for repair. **Dis Colon Rectum** 33:891-901, 1990.

HERRMANN, J. B.; WOODWARD, S. C.; PULANSKI, E. J. Healing of colonic anastomoses in the rat. **Surg Gynecol Obstet.** 119:269-75, 1964.

HESP, F.; HENDRIKS, T.; SCHILLING, P. H.; LUBBERS, E. J.; DE BOER, H. H. Histological features of wound repair: a comparison between experimental ileal and colonic anastomoses. **Br J Exp Pathol**, 1985; 66:511-518.

HEYLAND, D. K.; COOK, D. J.; GUYATT, G. H. Does the formulation of enteral feeding products influence infectious morbidity and mortality rates in the critically ill patients? A critical review of the evidence. **Crit Care Med.** 1994 Jul;22(7):1192-202.

HEYLAND, D. K.; NOVAK, F.; DROVER, J. W.; JAIN, M.; SU, X.; SUCHNER, U. Should immunonutrition become routine in critically ill patients? A systematic review of the evidence. **JAMA.** 2001 Aug 22-29;286(8):944-53.

HEYS, S. D.; WALKER, L. G.; SMITH, I.; EREMIN, O. Enteral nutritional supplementation with key nutrients in patients with critical illness and cancer: a meta-analysis of randomized controlled clinical trials. **Ann Surg.** 1999 Apr;229(4):467-77.

HÖGSTRÖM, H.; HAGLUND, U.; ZEDERFELDT, B. Suture technique and early breaking strength of intestinal anastomoses and laparotomy wounds. **Acta Chir. Scand.** 151:441-443, 1985.

HORIE, H.; OKADA, M.; KOJIMA, M.; NAGAI, H. Favorable effects of preoperative enteral immunonutrition on a surgical site infection in patients with colorectal cancer without malnutrition. **Surg Today.** 2006;36(12):1063-8. Epub 2006 Dec 25.

HOWES, E. L.; SOOY, J. W.; HARVEY, S. C. The healing of wounds as determined by their tensile strength. **JAMA.** 92(1):42-45, 1929.

IGARASHI, K.; KASHIWAGI, K. Polyamines: mysterious modulators of cellular functions. **Biochem Biophys Res Commun.** 2000; 271:559-64.

IKEUCHI, D.; ONODERA, H.; AUNG, T.; KAN, S.; KAWAMOTO, K.; IAMAMURA, M.; MAETANI, S. Correlation of tensile strength with bursting pressure in the evaluation of intestinal anastomosis. **Dig Surg**. 16:478-85, 1999.

IRVIN, T. T.; HUNT, T. K. Reappraisal of the healing process of anastomosis of the colon. **Surg Gynecol Obstet**. 138:741-6, 1974a.

IRVIN, T. T.; HUNT, T. K. Effect of malnutrition on colonic healing. **Ann Surg** 180(5): 765-72, 1974b.

JIBORN, H.; AHONEN, J.; ZEDERFELDT, B. Healing of experimental colonic anastomoses. The effect of suture technic on collagen concentration in the colonic wall. **Am J Surg**. 135:333-340, 1978.

JIBORN, H.; AHONEN, J.; ZEDERFELDT, B. Healing of experimental colonic anastomoses III: collagen metabolism in the colon after left colon resection. **Am J Surg**. 139:398-405, 1980.

JONES, N. E.; HEYLAND, D. K. Pharmaconutrition: a new emerging paradigm. **Curr Opin Gastroenterol**. 2008 Mar;24(2):215-22.

JONSSON, K.; JIBORN, H.; ZEDERFELDT, B. Breaking strength of small intestinal anastomoses. **Am J Surg**. 145:800-3, 1983.

JONSSON, K.; JIBORN, H.; ZEDERFELDT, B. Changes in collagen content of the small intestinal wall after anastomosis. **Am J Surg**. 150(9):315-7, 1985.

JONSSON, K.; JIBORN, H.; ZEDERFELDT, B. Collagen metabolism in small intestinal anastomosis. **Am J Surg**. 154(9):288-91, 1987.

JUNQUEIRA, L. C. U.; COSSERMELLI, W.; BRENTANI, R. Differential staining of collagens type I, II and III by Sirius Red and polarization microscopy. **Arch Histol Jpn** 41:267-74, 1978.

JUNQUEIRA, L. C. U.; MONTES, G. S.; SANCHES, E. M. The influence of tissue section thickness on the study of collagen by the picosirius-polarization method. **Histochemistry**, 74:153-6, 1982.

KARAHASANOGLU, T.; ALTINLI, E.; HAMZAOGLU, I.; PAKSOY, M.; YEŞILDERE, T.; ALEMDAROGLU, K. Effect of growth hormone treatment on the healing of left colonic anastomoses in protein-malnourished rats. **Br J Surg**. 1998 Jul;85(7):931-3.

KEMEN, M.; SENKAL, M.; HOMANN, H. H.; MUMME, A.; DAUPHIN, A. K.; BAIER, J.; WINDELER, J.; NEUMANN, H.; ZUMTOBEL, V. Early postoperative enteral nutrition with arginine-omega-3 fatty acids and ribonucleic acid-supplemented diet versus placebo in cancer patients: an immunologic evaluation of Impact. **Crit Care Med**. 1995 Apr;23(4):652-9.

KHOURY, G. A.; WAXMAN, B. P. Large bowel anastomoses: the healing process and sutured anastomoses: a review. **Br J Surg**. 70:61-3, 1983.

KINNEY, J.M.; WEISSMAN, C. Forms of malnutrition in stressed and unstressed patients. **Clin Chest Med** 1986; 7:19.

KIRK, S. J.; HURSON, M.; REGAN, M. C.; HOLT, D. R.; WASSERKRUG, H. L.; BARBUL, A. Arginine stimulates wound healing and immune function in elderly human beings. **Surgery**. 1993 Aug;114(2):155-9.

KIYAMA, T.; WITTE, M. B.; THORNTON, F. J.; BARBUL, A. The route of nutrition support affects the early phase of wound healing. **JPEN J Parenter Enteral Nutr** 1998; 22:276.

KLEIN, S.; KINNEY, J.; JEEJEEBHOY, K.; ALPERS, D.; HELLERSTEIN, M.; MURRAY, M.; TWOMEY P. Nutrition support in clinical practice: review of published data and recommendations for future research directions. Summary of a conference sponsored by the National Institutes of Health, American Society for Parenteral and Enteral Nutrition, and American Society for Clinical Nutrition. **Am J Clin Nutr**. 1997 Sep;66(3):683-706.

KORUDA, M. J.; ROLANDELLI, R. H. Experimental studies on the healing of colonic anastomoses. **J Surg Res** 48:504, 1990.

LACEY, J. M.; WILMORE, D. W. Is Glutamine a conditionally essential amino acid? **Nutr Rev.** 48:297-309, 1990.

LANGKAMP-HENKEN, B.; JOHNSON, L. R.; VIAR, M. J.; GELLER, A. M.; KOTB, M. Differential effect on polyamine metabolism in mitogen and superantigen-activated human T-cells. **Biochim Biophys Acta.** 1998;1425:337-47.

LAW, D. K.; DUDRICK, S. J.; ABDOU, N. I. Immunocompetence of patients with protein-calorie malnutrition. The effects of nutritional repletion. **Ann Intern Med** 1973; 79:545.

LAW, N. W.; ELLIS, H. The effect of parenteral nutrition on the healing of abdominal wall wounds and colonic anastomosis in protein-malnourished rats. **Surgery,** 107(4):449-454, 1990.

LAWRENCE, W. T.; DIEGELMANN, R. F. Growth factors in wound healing. **Clin Dermatol** 1994; 12(1):157-69.

LEITE, C. V. S.; NARESSE, L. E.; KOBAYASI, S.; MINOSSI, J. G.; BURINI, R. C.; CURI, P. R.; HOSSNE, W. S. Efeito da desnutrição protéica na anastomose do cólon distal no rato. Estudo da força de ruptura e do colágeno tecidual. **Acta Cir Bras.** 8(4)145-150, 1993.

LELEIKO, N. S.; WALSH, M. J. Dietary purine nucleotides and the gastrointestinal tract. **Nutrition.** 1995 Nov-Dec;11(6):725-30.

LEVENSON, S. M.; GEEVER, E. F.; CROWLEY, L. V.; OATES, J. F.; BERARD, C. W.; ROSEN, H. The healing of rat skin wounds. **Ann Surg.** 161:293-308, 1965.

LUIS, D. A.; IZAOLA, O.; CUELLAR, L.; TERROBA, M. C.; ALLER, R. Randomized clinical trial with an enteral arginine-enhanced formula in early postsurgical head and neck cancer patients. **Eur J Clin Nutr.** 2004 Nov;58(11):1505-8.

MAEHIRA, F.; LUYO, G. A.; MIYAGI, I.; OSHIRO, M.; YAMANE, N.; KUBA, M.; NAKAZATO, Y. Alterations of serum selenium concentrations in the acute phase of pathological conditions. **Clin Chim Acta.** 2002 Feb;316(1-2):137-46.

MAINOUS, M. R.; DEITCH, E. A. Nutrition and infection. **Surg Clin North Am** 1994; 74:659.

MANZANARES, W.; HARDY, G. Selenium supplementation in the critically ill: posology and pharmacokinetics. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**. 2009 May;12(3):273-80.

MCCAULEY, R.; PLATELL, C.; HALL, J.; MCCULLOCH, R. Effects of glutamine infusion on colonic anastomotic strength in the rat. **JPEN**. 15(4):437-9, 1991.

MCCOWEN, K. C.; BISTRAN, B. R. Immunonutrition: problematic or problem solving? **Am J Clin Nutr**. 2003 Apr;77(4):764-70.

MCDANIEL, J. C.; BELURY, M.; AHJEVYCH, K.; BLAKELY, W. Omega-3 fatty acids effect on wound healing. **Wound Repair Regen**. 2008 May-Jun;16(3):337-45.

MILLER, E. J. A review of biochemical studies on the genetically distinct collagens of the skeletal system. **Clin Orthop Relat Res**. 1973 May;(92):260-80.

MILLS, C. Macrophage arginine metabolism to ornithine/urea or nitric oxide/citrulline: a life or death issue. **Crit Rev Immunol**. 2001; 21: 399-426.

MODOLIN, M. L. A.; BEVILACQUA, R. G.; MARGARIDO, N. F.; GONÇALVES, E. L. Cicatrização das feridas abertas na desnutrição com hipoproteïnemia. Estudo experimental. **Rev Hosp Clin Fac Med S Paulo**. 1982;37:275-8.

MODOLIN, M. L. A.; BEVILACQUA, R. G.; MARGARIDO, N. F.; GONÇALVES, E. L. The effects of protein malnutrition on wound contraction: An experimental study. **Ann Plast Surg**. 1984;5:428-30.

MONTEJO, J. C.; ZARAZAGA, A.; LÓPEZ-MARTÍNEZ, J.; URRÚTIA, G.; ROQUÉ, M.; BLESÁ, A. L.; CELAYA, S.; CONEJERO, R.; GALBÁN, C.; GARCÍA DE LORENZO, A.; GRAU, T.; MESEJO, A.; ORTIZ-LEYBA, C.; PLANAS, M.; ORDÓÑEZ, J.; JIMÉNEZ, F. J.; SPANISH SOCIETY OF INTENSIVE CARE

MEDICINE AND CORONARY UNITS. Immunonutrition in the intensive care unit. A systematic review and consensus statement. **Clin Nutr.** 2003 Jun;22(3):221-33.

MOREIRA, J. C. M. Desnutrição e cicatrização de feridas. In: WAITZBERG, D. L. **Nutrição Oral, Enteral e Parenteral na Prática Clínica.** São Paulo, Atheneu, 2000. Cap. 26, p. 411-21.

MORI, N.; DOI, Y.; HARA, K.; YOSHIZUKA, M.; OHSATO, K.; FUJIMOTO, S. Role of multipotent fibroblasts in the healing colonic mucosa of rabbits. Ultrastructural and immunocytochemical study. **Histol Histopathol** 7:583-86,1992.

NADERPOUR, M.; RAD, J. S.; AYAT, E.; MESGARI, M.; FARAHANI, R. M.; ROSHANGAR, L.; TUBBS, R. S.; SHOJA, M. M. Dietary L-arginine and cutaneous wound healing. **Ital J Anat Embryol.** 2008 Jul-Sep;113(3):135-42.

NARESSE, L. E.; LUCCHIARI, P. H.; ANGELELI, A. Y. O.; BURINI, R. C.; RODRIGUES, M. A. M.; CURI, P. R.; KOBAYASI, S. Estudo comparativo de anastomoses no intestino delgado de cão: estudos da força de ruptura, hidroxiprolina tecidual e anatomopatológico. **Acta Cir Bras.** 3:106-112,1988.

NARESSE, L. E.; LUCCHIARI, P. H.; KOBAYASI, S. Estudo da resistência (força de ruptura) das anastomoses intestinais em plano único e em dois planos. **Rev Bras Cir** 78(4):247-250, 1988.

NARESSE, L. E.; MENDES, E. F.; CURI, P. R.; LUCCHIARI, P. H.; KOBAYASI, S. Aparelho para medida da força de ruptura das anastomoses intestinais. **Rev Hosp Clin Fac Méd S Paulo** 42(5):204-208, 1987.

NARESSE, L. E.; LEITE, C. V. S.; RODRIGUES, M. A. M.; ANGELELI, A. Y. O.; MINOSSI, J. G.; KOBAYASI, S. Efeito da peritonite fecal na cicatrização do cólon distal no rato. Avaliação anatomopatológica, estudo da força de ruptura e da hidroxiprolina tecidual. **Acta Cir Bras.** 8(2):48-53, 1993.

NEWSHOLME, E.; HARDY, G. Supplementation of diets with nutritional pharmaceuticals. **Nutrition.** 1997 Sep;13(9):837-9.

NIMNI, M. E.; DeGUIA, E.; BAVETTA, L. A. Synthesis and turnover of collagen precursors in rabbit skin. **Biochem J.** 102:143-7, 1967.

NIRGIOTIS, J. G.; HENNESSEY, P. J.; ANDRASSY, R. J. The effects of an arginine-free enteral diet on wound healing and immune function in the postsurgical rat. **J Pediatr Surg.** 1991 Aug;26(8):936-41.

OKAMOTO, Y.; OKANO, K.; IZUISHI, K.; USUKI, H.; WAKABAYASHI, H.; SUZUKI, Y. Attenuation of the systemic inflammatory response and infectious complications after gastrectomy with preoperative oral arginine and omega-3 fatty acids supplemented immunonutrition. **World J Surg.** 2009 Sep;33(9):1815-21.

O'LEARY, M. J.; COAKLEY, J. H. Nutrition and immunonutrition. **Br J Anaesth.** 1996 Jul;77(1):118-27.

ORGILL, D.; DEMLING, R. H. Current concepts and approaches to wound healing. **Crit. Care Med.** 16(9):899-908, 1988.

PACE, D.; CAMPOS, A. C. L.; GRAF, R. Effect of antioxidants (vitamin C, vitamin E and Ginkgo biloba) on the viability of dorsal skin flaps in rats. **Rev Soc Brasil Cir Plast** 2006; 21:77-81.

PEACOCK, E. E. Effects of dietary proline and hydroxyproline on tensile strength of healing wounds. **Proc Soc Exp Biol Med.** 1960;105:380-3.

PEREIRA, C. C. A. **Influência de dieta enteral suplementada com arginina e antioxidantes sobre a cicatrização cutânea experimental.** Tese (doutorado em Ciências), Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

PHILLIPS, S. J. Physiology of wound healing and surgical wound care. **ASAIO Journal.** 2000;46:2-5.

PONTES-ARRUDA, A.; ARAGÃO, A. M.; ALBUQUERQUE, J. D. Effects of enteral feeding with eicosapentaenoic acid, gamma-linolenic acid, and antioxidants in mechanically ventilated patients with severe sepsis and septic shock. **Crit Care Med.** 2006 Sep;34(9):2325-33.

PONTES-ARRUDA, A.; DEMICHELE, S.; SETH, A.; SINGER, P. The use of an inflammation-modulating diet in patients with acute lung injury or acute respiratory distress syndrome: a meta-analysis of outcome data. **JPEN J Parenter Enteral Nutr.** 2008 Nov-Dec;32(6):596-605.

RABAU, M. Y.; HIRSHBERG, A.; HISS, Y.; DAYAN, D. Intestinal anastomosis healing in rat: collagen concentration and histochemical characterization by picosirius red staining and polarizing microscopy. **Exp. Mol. Pathol.** 62:160-5, 1995.

RADY, M. Y.; RYAN, T.; STARR, N. J. Clinical characteristics of preoperative hypoalbuminemia predict outcome of cardiovascular surgery. **JPEN J Parenter Enteral Nutr** 1997; 21:81.

ROBERTS, P. R.; BLACK, K. W.; SANTAMAURO, J. T.; ZALOGA, G. P. Dietary peptides improve wound healing following surgery. **Nutrition.** 1998;14:266-9.

ROBSON, M. C.; STEED, D. L.; FRANZ, M. G. Wound healing: biologic features and approaches to maximize healing trajectories. **Curr Probl Surg.** Chicago, 2001; 38(2): 73-94.

ROLANDELLI, R. H.; BUCKMIRE, M. A.; BERNSTEIN, K. A. Intravenous butyrate and healing of colonic anastomoses in the rat. **Dis Colon Rectum.** 1997 Jan;40(1):67-70.

ROLANDELLI, R. H.; KORUDA, M. J.; SETTLE, R. G.; ROMBEAU, J. L. Effects of intraluminal infusion of short-chain fatty acids on the healing of colonic anastomosis in the rat. **Surgery.** 1986 Aug;100(2):198-204.

RUBERG, R. L. Role of nutrition in wound healing. Symposium on Wound Management. **Surg Clin North America.** 1984;64:705-14.

RUTHIG, D. J.; MECKLING-GILL, K. A. Both (n-3) and (n-6) fatty acids stimulate wound healing in the rat intestinal epithelial cell line, IEC-6. **J Nutr.** 1999 Oct;129(10):1791-8.

SANTOS, J. I. Nutrition, infection and immunocompetence. **Infect Dis Clin North Am** 1994; 8:243.

SANTOS, O. J.; RIBAS FILHO, J. M.; CZECZKO, N. G.; CASTELO BRANCO NETO, M. L.; NAUFEL JÚNIOR, C.; FERREIRA, L. M.; CAMPOS, R. P.; MOREIRA, H.; PORCIDES, R. D.; DOBROWOLSKI, S. Evaluation of the aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) extract on the healing process of gastroraphy in rats. **Acta Cir Bras**;21(supl.2):39-45, 2006. ilus, tab.

SAVASSI-ROCHA, P. R.; LOPES, R. L. C. Anastomoses intestinais: bases da cicatrização e análise dos diferentes tipos. In: CASTRO, L.P.; SAVASSI-ROCHA, P. R.; CUNHA-MELLO, J. R. **Tópicos em Gastroenterologia**, n. 5, Rio de Janeiro, p. 493-521, 1994.

SCHAEFFER, M. R.; TANTRY, U.; THORNTON, F. J.; BARBUL, A. Inhibition of nitric oxide synthesis in wounds: pharmacology and effect on accumulation of collagen in wounds in mice. **Eur J Surg**. 1999;16:262-7.

SCHILLING, J.; VRANJES, N.; FIERZ, W.; JOLLER, H.; GYURECH, D.; LUDWIG, E.; MARATHIAS, K.; GEROULANOS, S. Clinical outcome and immunology of postoperative arginine, omega-3 fatty acids, and nucleotide-enriched enteral feeding: a randomized prospective comparison with standard enteral and low calorie/low fat i.v. solutions. **Nutrition**. 1996 Jun;12(6):423-9.

SCHMITZ, L. D.; CAMPOS, A. C. L.; CAMILO, D. A. G. Perioperative oral glutamine supplementation and the healing of colonic anastomoses in malnourished rats. **JPEN J Parenter Enteral Nutr** 2006; 30:s1-s60.

SENKAL, M.; MUMME, A.; EICKHOFF, U.; GEIER, B.; SPÄTH, G.; WULFERT, D.; JOOSTEN, U.; FREI, A.; KEMEN, M. Early postoperative enteral immunonutrition: clinical outcome and cost-comparison analysis in surgical patients. **Crit Care Med**. 1997 Sep;25(9):1489-96.

SHASHIDHARAN, M.; LIN, K. M.; TERNENT, C. A.; SMYRK, T. C.; THORSON, A. G.; BLATCHFORD, G. J.; CHRISTENSEN, M. A. Influence of arginine dietary supplementation on healing colonic anastomosis in the rat. **Dis Colon Rectum**. 1999 Dec;42(12):1613-7.

SHI, H. P.; FISHEL, R. S.; EFRON, D. T.; WILLIAMS, J. Z.; FISHEL, M. H.; BARBUL, A. Effect of supplemental ornithine on wound healing. **J Surg Res**, v.106, n.2, Aug, p.299-302. 2002.

SHI, H. P.; WANG, S. M.; ZHANG, G. X.; ZHANG, Y. J.; BARBUL, A. Supplemental L-arginine enhances wound healing following trauma/hemorrhagic shock. **Wound Repair Regen**. 2007 Jan-Feb;15(1):66-70.

SINGER, A. J.; CLARK, R. A. Cutaneous wound healing. **N Engl J Med**, v. 341, p. 738-746, 1999.

SISSON, R.; LANG, S.; SERKES, K.; PAREIRA, M. Comparison of wound healing in various nutritional deficiency states. **Surgery** 44(4):613-7, 1958.

SITREN, H.; FISCHER, H. Nitrogen in rats fed on diets enriched with arginine and glycine: improve nitrogen retention after trauma. **Br J Nutr**. 1977;3:195-208.

SOUBA, W. W. Glutamine: a key substrate for the splanchnic bed. **Annu. Rev. Nutr**. 11:285-309, 1991.

SOUBA, W. W.; KLIMBERG, V. S.; PLUMLEY, D. A. SALLOUM, R. M.; FLYNN, T. C.; BLAND, K. I.; COPELAND, E. M. The role of glutamine in maintaining a healthy gut and supporting the metabolic response to injury and infection. **J Surg Res**. 48(4):383-391, 1990.

SOUBA, W. W.; SMITH, R. J.; WILMORE, D. W. Glutamine metabolism by the intestinal tract. **J Parent Enteral Nutr**. 9:608-17, 1985.

SOUSA, J. B.; SOARES, E. G.; APPRILLI, F. Effects of diclofenac sodium on intestinal anastomotic healing. **Dis Colon Rectum** 34(7):613-7, 1991.

SRIRAM, K.; LONCHYNA, V. A. Micronutrient supplementation in adult nutrition therapy: practical considerations. **JPEN J Parenter Enteral Nutr**. 2009 Sep-Oct;33(5):548-62.

STECHMILLER, J. K.; CHILDRESS, B.; COWAN, L. Arginine supplementation and wound healing. **Nutr Clin Prat.** 2005;20:52-61.

STEIGER, E.; ALLEN, T. R.; DALY, J. M.; VARS, H. M.; DUDRICK, S. J. Beneficial effects of immediate post-operative total parenteral nutrition. **Surg Forum.** 22:89-90, 1971.

SUCHNER, U.; KUHN, K. S.; FURST, P. The scientific basis of immunonutrition. **Proc Nutr Soc.** 2000;59:553-63.

SWEAT, F.; PUCHTLER, H.; ROSENTHAL, S. I. Sirius red f3ba as a stain for connective tissue. **Arch. Pathol.** 78:69-72, 1964.

TAKEUCHI, H.; IKEUCHI, S.; KAWAGUCHI, Y.; KITAGAWA, Y.; ISOBE, Y.; KUBOCHI, K.; KITAJIMA, M.; MATSUMOTO, S. Clinical significance of perioperative immunonutrition for patients with esophageal cancer. **World J Surg.** 2007 Nov;31(11):2160-7.

TEPASKE, R.; VELTHUIS, H.; OUDEMANS-VAN STRAATEN, H. M.; HEISTERKAMP, S. H.; VAN DEVENTER, S. J.; INCE, C.; EÏSMAN, L.; KESECIOGLU, J. Effect of preoperative oral immune-enhancing nutritional supplement on patients at high risk of infection after cardiac surgery: a randomised placebo-controlled trial. **Lancet.** 2001 Sep 1;358(9283):696-701.

TRUBIAN, P. S. **Nutrição perioperatória e cicatrização de anastomoses colônicas em ratos desnutridos e toxêmicos: tensiometria, densitometria do colágeno e quantificação de angiogênese e miofibroblastos.** Tese (doutorado em Clínica Cirúrgica), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

TRUBIAN, P. S.; BRANCO, A. B.; CAMPOS, A. C. L. Effect of octreotide administered subcutaneously on the healing of gastric sutures in rats. **ABCD Arq Brasil Cir Dig.** 2007; 20:172–178.

THOMPSON, W. D.; RAVDIN, I. S.; FRANC, I. L. The effect of hypoproteinemia on wound disruption. **Arch Surg.** 36:500, 1938.

THORNTON, F. J.; BARBUL, A. Healing in the gastrointestinal tract. **Surg Clin North Am.** 77(3):549-573, 1997.

TODD, S. R.; GONZALEZ, E. A.; TURNER, K.; KOZAR, R. A. Update on postinjury nutrition. **Curr Opin Crit Care.** 2008 Dec;14(6):690-5.

VAN BUREN, C. T.; KULKARNI, A. D.; RUDOLPH, F. B. The role of nucleotides in adult nutrition. **J Nutr.** 1994 Jan;124(1 Suppl):160S-164S.

VAN WINKLE, W. The tensile strength of wounds and factors that influence it. **Surg Gynecol Obstet.** 129(4):819-42, 1969.

VIZZOTTO JR, A. O.; NORONHA, L.; SCHEFFEL, D. L. H.; CAMPOS, A. C. L. Effect of the cisplatin applied before and after the surgical procedure on the healing of colonic anastomoses in rats. **J Bras Pathol Med Lab.** 2003; 39:143-149.

WAITZBERG, D. L.; CAIAFFA, W. T.; CORREIA, M. I. Hospital malnutrition: the Brazilian national survey (IBRANUTRI): a study of 4000 patients. **Nutrition.** 2001 Jul-Aug;17(7-8):573-80.

WAITZBERG, D. L.; SAITO, H.; PLANK, L. D.; JAMIESON, G. G.; JAGANNATH, P.; HWANG, T. L.; MIJARES, J. M.; BIHARI, D. Postsurgical infections are reduced with specialized nutrition support. **World J Surg.** 2006 Aug;30(8):1592-604.

WAITZBERG, D. L.; TORRINHAS, R. S. Fish oil lipid emulsions and immune response: what clinicians need to know. **Nutr Clin Pract.** 2009 Aug-Sep;24(4):487-99.

WARD, M. W.; DANZI, M.; LEWIN, M. R.; RENNIE, M. J.; CLARK, C. G. The effects of subclinical malnutrition and refeeding on the healing of experimental colonic anastomoses. **Br. J. Surg.** 69(6)308-10, 1982.

WILLIAMS, J. Z.; BARBUL, A. Effect of a specialized amino acid mixture on human collagen deposition. **Ann Surg.** 2002;236:369-74.

WILLIAMS, J. Z.; BARBUL, A. Nutrition and wound healing. **Surg Clin North Am.** 83(3) 571-596, 2003.

WINDMUELLER, H. G. Glutamine utilization by the small intestine. **Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol.** 53:201-37, 1982.

WISE, L.; McALISER, W.; STEIN, T.; SCHUCK, P. Studies on the healing of anastomoses of small and large intestine. **Surg Gynecol Obstet.** 141:190-194, 1975.

WITTE, M. B.; BARBUL, A. Arginine physiology and its implication for wound healing. **Wound Repair Regen.** 2003;11:419-23.

WITTE, M. B.; BARBUL, A. General principles of wound healing. **Surg. Clin. North Am.**, Philadelphia, v. 77, p. 509-528, 1997.

WITTE, M. B.; BARBUL, A. Role of nitric oxide in wound repair. **Am J Surg**, v.183, n.4, Apr, p.406-12. 2002.

WITTE, M. B.; BARBUL, A.; SHICK, M. A.; VOGT, N.; BECKER, H. D. Upregulation of arginase expression in wound derived fibroblasts. **J Surg.** 2002;105:35-42.

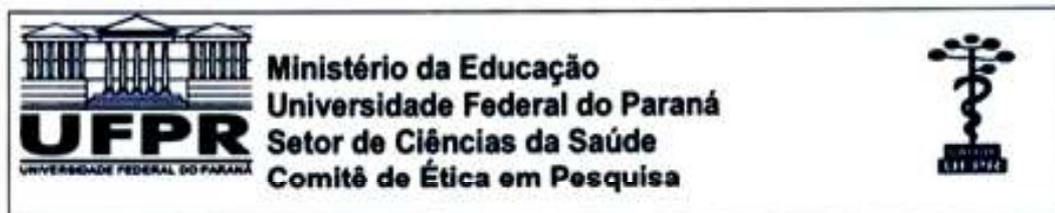
WU, F. C.; AYRIZONO, M. L. S.; FAGUNDES, J. J.; COY, C. S. R.; GÓES, J. R. N.; LEONARDI, L. S. Estudos biomecânicos da ação de aderências sobre a anastomose cólica. Trabalho experimental em ratos. **Acta Cirur. Bras.** 18(3):216-23, 2003.

WU, G. Intestinal mucosal amino acid catabolism. **J Nutr.** 1998;128:1249-52.

Wu, G.; Flynn, N. E.; Flynn, S. P.; Jolly, C. A.; Davis, P. K. Dietary protein or arginine deficiency impairs constitutive and inducible nitric oxide synthesis by young rats. **J Nutr**, v.129, n.7, Jul, p.1347-54. 1999.

WU, G. H.; ZHANG, Y. W.; WU, Z. H. Modulation of postoperative immune and inflammatory response by immune-enhancing enteral diet in gastrointestinal cancer patients. **World J Gastroenterol.** 2001 Jun;7(3):357-62.

ZALOGA, G. P.; SIDDIQUI, R.; TERRY, C.; MARIK, P. E. Arginine: mediator or modulator of sepsis? **Nutr Clin Pract.** 2004; 19:201-15.



Curitiba, 07 de julho de 2008.

Ilmo (a) Sr. (a)
Antonio Carlos Ligocki Campos
Nicolas Galat Ahumada
Nesta

Prezado(a) Pesquisador(a),

Comunicamos que o Projeto de Pesquisa intitulado **"Influência da suplementação da dieta enteral padrão com arginina e antioxidantes sobre a cicatrização (colônica, epitelial) de ratos"** está de acordo com as normas éticas estabelecidas pela Resolução CNS 196/96, foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Setor de Ciências da Saúde da UFPR, em reunião realizada no dia 26 de março de 2008 e apresentou pendência(s). Pendência(s) apresentada(s), documento(s) analisado(s) e projeto aprovado em 04 de julho de 2008.

Registro CEP/SD: AN.011.002.08.03

Conforme a Resolução CNS 196/96, solicitamos que sejam apresentados a este CEP, relatórios sobre o andamento da pesquisa, bem como informações relativas às modificações do protocolo, cancelamento, encerramento e destino dos conhecimentos obtidos.

Data para entrega do relatório final ou parcial: 04/01/2008.

Atenciosamente

Prof. Dr. Liliانا Maria Labronici
Coordenadora do Comitê de Ética em
Pesquisa do Setor de Ciências da Saúde