

CLÓVIS EURICO RÖHRIG



EFEITOS DA GLUTAMINA NO SISTEMA  
MONOMORFONUCLEAR DE FAGÓCITOS,  
NA ICTERÍCIA OBSTRUTIVA

Tese apresentada como requisito à obtenção  
de grau de Doutor. Curso de Pós-Graduação  
em Clínica Cirúrgica do Setor de Ciências da  
Saúde da Universidade Federal do Paraná.

**Orientador: Prof. Dr. Osvaldo Malafaia**

CURITIBA  
1995

CLÓVIS EURICO RÖHRIG

EFEITOS DA GLUTAMINA NO SISTEMA  
MONOMORFONUCLEAR DE FAGÓCITOS,  
NA ICTERÍCIA OBSTRUTIVA

Tese apresentada como requisito à obtenção  
de grau de Doutor. Curso de Pós-Graduação  
em Clínica Cirúrgica do Setor de Ciências da  
Saúde da Universidade Federal do Paraná.

**Orientador: Prof. Dr. Osvaldo Malafaia**

CURITIBA  
1995

A mais importante característica do rato é o comportamento curioso, o que lhe garante a sobrevivência - o homem é ainda mais curioso.

... Esse comportamento dificilmente pode ser distinguido do "jogo", e a íntima ligação que existe entre a pesquisa e o "jogo" jamais se me tornou mais clara...

... Ao se iniciar a construção do objeto agora já conhecido, porém, o "jogo" é substituído por um comportamento orientado única e exclusivamente para um objetivo bem definido: a este comportamento denomino "trabalho". A grande atração exercida por um objetivo definido inibe a capacidade de "brincar à vontade" com fatores diversos, de cuja combinação poderia surgir uma solução para o problema dado.

Konrad Lorenz.

A Rosemarie, Sergei, Marianne, Beatriz e Sílvia, pelo carinho com que me envolveram.

A meus pais, pela formação.

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Dario Birolini, pelas sugestões que resultaram na utilização das bactérias marcadas com isótopo radiativo neste modelo.

À Dra. Maria K. Sato, pelo paciente treinamento da equipe na técnica de marcação das bactérias.

Ao Prof. Dr. Osvaldo Malafaia, em cujo laboratório parte das investigações foram realizadas, por ter, além do seu mister formal, dado apóio constante, valiosos conselhos e, sobretudo, pela amizade.

Ao Dr. Luiz Carlos Woellner, diretor do laboratório de medicina nuclear do Hospital de Clínicas da UFPR, pelo envolvimento constante e eficiente, ainda que despretencioso.

À Profª. Dra. Paula Verceli, pelos ensinamentos na física nuclear e determinação dos padrões operacionais dos aparelhos, necessários à realização da pesquisa.

Aos Drs. Adriana Prueter Pazin, Cezar Sarraf Berger, Edson Keiti Otta, Geverson Canello e Iversen Ferrante Boscoli, pelo apreço, dedicação e constante ajuda na realização das experiências.

Aos Drs. Luciana Freitas dos Santos e Milton Santoro, pelo inestimável auxílio nas fases preliminares.

Às Dras. Helena Aguiar Peres Homem Mello de Souza e Mônica da Silveira, pela dedicação, auxílio e sugestões nas áreas relacionadas a bacteriologia e a bioquímica.

Ao Prof. Dr. Marco Aurélio Cravo, pela amizade e valiosa contribuição para a compreensão e conceituação das alterações vistas ao microscópio óptico.

À Profª. Dra. Vanda Rebuffi, pelas inestimáveis sugestões, na avaliação das alterações microscópicas dos pulmões.

Ao Prof. Dr. Anselmo Chaves Neto, pelo apreço e amizade, cujos ensinamentos de estatística e de matemática foram essenciais na elaboração deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Césio Johansen de Moura, amigo e conselheiro em inúmeros momentos de minha vida, pelo inestimável auxílio prestado na elaboração do trabalho.

Aos Profs. Drs. Hélio Germiniani e Iwan Augusto Collaço, pela amizade, oportunas críticas e valiosas sugestões.

Ao Prof. Douglas Villatore, pela proximidade, apoio e revisão do texto.

Ao Eng. Douglas Henrique Villatore, pelo carinho e assessoria na informática.

À Sra. Rosângela Nunes Ferreira, pelo trabalho incansável de secretaria executiva

Às Bibliotecárias Esfie Rosy Riskalla e Rosemarie Margit Reinhardt Röhrig, pela assessoria bibliográfica.

Ao Laboratório Support que, através do seu representante Pro-Diet, ofereceu a dieta Imunonutril e a colaboração da nutricionista Celiane Gonçalves.

Ao TECPAR, pelo fornecimento dos ratos.

Ao Prof. Dr. Osmar Martins, diretor do Hospital de Clínicas na época em que foram realizados os testes, pela colaboração despretenciosa.

À todos que direta ou indiretamente contribuíram para o êxito das experiências.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	vii
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	viii
<b>RESUMO</b> .....	ix
<b>ABSTRACT</b> .....	x
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	1.
1. 1 OBJETIVO.....	4.
<b>2 MÉTODO</b> .....	5.
2. 1 PROCEDIMENTOS OPERATÓRIOS.....	6.
2. 2 MARCAÇÃO DAS BACTÉRIAS COM RADIOISÓTOPO.....	7.
2. 3 PROTOCOLO EXPERIMENTAL.....	8.
2. 3. 1 Declínio das contagens no sangue.....	8.
2. 3. 2 Distribuição do inóculo pelos órgãos.....	10.
2. 3. 3 Histologia.....	12.
2. 3. 4 Tratamento estatístico.....	14.
<b>3 RESULTADOS</b> .....	17.
3.1 HISTOLOGIA GERAL.....	18.
3. 1. 1 Histologia do fígado.....	18.
3. 1. 2 Histologia do baço.....	19.
3. 1. 3 Histologia do pulmão.....	20.
3. 1. 4 Histologia do linfonodo mesentérico.....	23.
3. 1. 5 Histologia do rim.....	24.
3. 1. 6 Histologia da mucosa do íleo terminal.....	24.
3. 2 TESTES BIOQUÍMICOS DAS FUNÇÕES HEPÁTICA E NUTRICIONAL.....	29.
3. 3 ÍNDICE DE FAGOCITOSE.....	31.
3. 4 CAPTAÇÃO GERAL DO CONJUNTO DE ÓRGÃOS.....	32.
3. 5 PERCENTUAL DE CAPTAÇÃO PELOS ÓRGÃOS.....	34.
3. 6 CAPTAÇÃO POR GRAMA DE TECIDO.....	39.
3. 6. 1 Fígado.....	39.
3. 6. 2 Baço.....	40.
3. 6. 3 Pulmão.....	40.
3. 6. 4 Linfonodo mesentérico.....	41.
3. 6. 5 Rim.....	43.
<b>4 COMENTÁRIOS</b> .....	44.
4. 1 ASPECTOS NUTRICIONAIS.....	45.
4. 2 DECLÍNIO DAS BACTÉRIAS INJETADAS NO SANGUE.....	49.
4. 2. 1 Índice de fagocitose.....	52.
4. 3 COMPORTAMENTO DOS ÓRGÃOS NA CAPTAÇÃO DAS BACTÉRIAS MARCADAS.....	55.
4. 4 CONSIDERAÇÕES SOBRE A BARREIRA DA MUCOSA INTESTINAL.....	59.
4. 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	64.

<b>5.CONCLUSÕES</b> .....	66.
<b>ANEXO: GRÁFICOS</b> .....	67.
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	77.

## LISTA DE FIGURAS

1	CORTES DE FÍGADO.....	18.
2	COMPARAÇÃO DO NÚMERO DE CÉLULAS DE KUPFFER.....	20.
3	CORTES DE PULMÃO.....	21.
4	COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DO NÚMERO DE PNEUMÓ- CITOS.....	22.
5	COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DOS NÚMEROS DE MACRÓ- FAGOS ALVEOLARES.....	24.
6	EXEMPLO DE VILOSIDADES COM ESCORE 0 E 1.....	25.
7	EXEMPLO DE VILOSIDADE COM ESCORE 2 E 3.....	26.
8	EXEMPLO DE VILOSIDADE COM ESCORE 4.....	27.
9	COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DA PONTUAÇÃO DAS ALTE- RAÇÕES DA MUCOSA INTESTINAL.....	29.
10	COMPARAÇÃO DOS ÍNDICES DE FAGOCITOSE ENTRE OS GRUPOS.....	32.
11	COMPARAÇÃO DA CAPTAÇÃO GERAL DO CONJUNTO DE ÓRGÃOS.....	33.
12	COMPARAÇÃO DO PERCENTUAL DE CAPTAÇÃO PELO FÍGADO.....	34.
13	COMPARAÇÃO DO PERCENTUAL DE CAPTAÇÃO PELO BAÇO.....	36.
14	COMPARAÇÃO DO PERCENTUAL DE CAPTAÇÃO PELO PULMÃO.....	36.
15	COMPARAÇÃO DO PERCENTUAL DE CAPTAÇÃO PELO LINFONODO MESENTÉRICO.....	37.
16	COMPARAÇÃO DO PERCENTUAL DE CAPTAÇÃO PELO RIM.....	37.
17	COMPARAÇÃO DA CAPTAÇÃO POR GRAMA DE TECIDO HEPÁTICO.....	39.
18	COMPARAÇÃO DA CAPTAÇÃO POR GRAMA DE TECIDO ESPLÊNICO.....	40.
19	COMPARAÇÃO DA CAPTAÇÃO POR GRAMA DE TECIDO PULMONAR.....	41.
20	COMPARAÇÃO DA CAPTAÇÃO POR GRAMA DE TECIDO DO LINFONODO MESENTÉRICO.....	42.
21	COMPARAÇÃO DA CAPTAÇÃO POR GRAMA DE TECIDO RENAL.....	42.

## LISTA DE TABELAS

1	REPRESENTAÇÃO DO PESO DOS ÓRGÃOS COMO PERCENTUAL DO PESO CORPÓREO.....	17.
2	MÉDIAS DO NÚMERO DE CÉLULAS DE KUPFFER, POR CAMPO.....	19.
3	MÉDIAS DO NÚMERO DE PNEUMÓCITOS II.....	22.
4	MÉDIAS DO NÚMERO DE MACRÓFAGOS. PULMONARES.....	23.
5	MÉDIAS DA PONTUAÇÃO DAS ALTERAÇÕES DA MUCOSA INTESTINAL.....	28.
6	MÉDIAS DOS TESTES DE FUNÇÃO HEPÁTICA E HEMATÓCRITO.....	30.
7	ÍNDICE DE FAGOCITOSE.....	31.
8	CAPTAÇÃO GERAL DO CONJUNTO DE ÓRGÃOS.....	33.
9	CAPTAÇÃO PERCENTUAL DAS BACTÉRIAS MARCADAS [ <sup>131</sup> I ], PELOS ÓRGÃOS.....	35.
10	CAPTAÇÃO POR GRAMA DE TECIDO.....	38.

## RESUMO

Sabe-se que a icterícia obstrutiva produz depressão funcional no sistema retículo-endotelial. A transmigração de endotoxinas para o sangue pode depender de alterações na barreira mucosa. A glutamina é nutriente essencial ao epitélio intestinal. Deseja-se testar se a glutamina complementar à dieta conserva a função de SRE e mantém a integridade da mucosa intestinal, na icterícia obstrutiva. Para tanto, estudaram-se 48 ratos Wistar, machos, com peso médio de  $290,04 \pm 7,64$  g, divididos em dois grupos de acordo com a dieta: ração e ração mais glutamina. Cada grupo foi subdividido em quatro subgrupos: controle, 7 dias, 14 dias e 21 dias de colestase. No dia dos testes, injetaram-se bactérias ( ATCC 25922 ) marcadas com  $^{131}\text{I}$  (  $0,8$  a  $1,0 \times 10^9$  ) em veia periférica. Obtiveram-se amostras de 0,2 ml de sangue da veia cava inferior, aos 30 seg., 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12 e 15 min., destinadas à determinação das contagens por minuto ( cpm ), numa unidade de captação nuclear, acoplada a um poço de cintilação de 2 polegadas. Realizaram-se regressões exponenciais com os valores das amostras dos primeiros 6 minutos, ajustadas pelos mínimos quadrados, cujos coeficientes angulares representaram os índices de fagocitose. Demonstrou-se, pela análise desses índices, que houve deficiência funcional progressiva dos fagócitos, a medida em que progrediu a colestase. No grupo tratado com glutamina isto não ocorreu, pois os índices de fagocitose permaneceram idênticos aos dos controles. Confirmaram-se os fatos acima através das medidas das cpm realizadas diretamente nos órgãos. Assim, houve captação decrescente, no conjunto de órgãos estudados, relacionada ao tempo de icterícia. No grupo da glutamina, a captação total se manteve idêntica a dos controles. O órgão que mais captou as bactérias do inóculo foi o fígado, com 70% nos controles e 44 % após três semanas de icterícia. Nos animais tratados com glutamina, essa capacidade continuou em 70% após o mesmo tempo de evolução da icterícia. Em ambos os grupos os pulmões se comportaram como órgãos de compensação. A participação do baço não apresentou variações, mas, o linfonodo mesentérico teve captação significativamente menor no grupo da glutamina. Neste grupo, também, as alterações da mucosa intestinal foram significativamente menores. Interpretaram-se esses fatos como indicativos de que a glutamina protegeu a mucosa intestinal, diminuindo, desta forma a ativação dos fagócitos dos linfonodos, ao mesmo tempo que conservou a função dos fagócitos do fígado e do pulmão. O número de fagócitos desses órgãos, entretanto, aumentou. Por isso, mediram-se os cpm por grama de tecido desses órgãos. Notou-se, desta forma, diminuição progressiva na captação das bactérias inoculadas, no fígado e no baço, ainda que significativamente menos acentuada, no grupo da glutamina, do que no grupo da ração. O pulmão, que por unidade do seu peso, não sofreu a influência da colestase, no grupo da ração, também não obteve benefícios da glutamina na segunda e terceira semanas de icterícia. Somente no final da terceira semana houve atenuação da capacidade de captação de bactérias, provavelmente por coincidirem a integridade da mucosa (semelhante a dos controles) e a preservação funcional do linfonodo. Esses resultados indicam que houve interdependência parcial dos fagócitos em relação à integridade da mucosa intestinal. Houve, provavelmente, uma ação direta da glutamina no sistema retículo endotelial capaz de proliferar o número de macrófagos pulmonares e, talvez, manter grande parte da função dos demais fagócitos, principalmente na primeira e na segunda semanas de evolução da colestase.

## ABSTRACT

Forty eight Wistar male rats with  $290,04 \pm 7,64$  g of average weight, divided in two groups according the diet: ration and ration plus glutamine were studied. Each group were divided in four sub-groups: control, 7 days, 14 days and 21 days of cholestasis. In the tests' day I131 marked bacteria (ATCC 25922) ( $0,8$  a  $1,0 \times 10^9$ ) were injected in a peripheral vein. Blood samples (0,2 ml) were drawn from inferior vena cava at 30 seconds, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12 and 15 minutes, to determine the counts per minute (cpm), in a nuclear captation unit, coupled with a 2 inches scintillation well. Exponential regressions were achieved with the six first measures, adjusted by the minimum square, which angular coefficients represented the phagocytosis indexes. The cpm were measured by readings realized directly from the tested organs, removed from the animals at the end of the tests. The phagocytosis indexes indicated progressive deficiency in the phagocytosis capacity, as the cholestasis progressed. In the glutamine treated group this did not occur and the phagocytosis indexes remained identical to the controls. The reflex of this picture was identified in the direct measures in the organs. So, there was decreased captation, in the pool of organs, related to the jaundice time. In the glutamine group the total captation remained identical to the controls. The liver was the organ that more captured the inoculum, with 70% in the controls and 44% after three weeks of jaundice. In the glutamine treated animals this capacity remained in 70% after the same time of evolution. In both groups the lungs functioned as compensation organs. The spleen participation did not present variations, but, the mesenteric lymphnode presented significantly less captation in the glutamine group. In this group, also, the intestinal mucosa alterations were significantly smaller. These facts seem to indicate that the glutamine in protecting the intestinal mucosa diminishes the activation of lymphnodes phagocytes, at the same time that conserved the liver's and lung's phagocytes function., although its number had increased as much in the liver as in the lung. Measuring the cpm per gram of tissue from these organs it was observed that there was progressive diminution from the liver's and lung's phagocytes activity, though significantly less pronounced in the glutamine group related to the ration group. The mesenteric lymphnode had similar behavior per gram of tissue as well as whole organ. The lung's phagocytosis capacity per gram of tissue that remained similar during the jaundice observation, in the glutamine group, presented significantly reduction of its capacity only in the third week. These results indicate that there is partial interdependency of phagocytes in relation to the intestinal mucosa integrity. There is, also, probably, a glutamine direct action in the reticuloendothelial system apt to proliferate the number of pulmonary macrophages and, perhaps, to maintain great part of the others phagocytes function, mainly in the first and second weeks of jaundice's evolution.

## 1. INTRODUÇÃO

As intervenções cirúrgicas em doentes com icterícia obstrutiva ainda se associam a morbidade e a mortalidade elevadas<sup>56</sup> que não se parecem relacionar ao porte das operações, quer executadas por técnica tradicional, quer por via endoscópica ou trans-parietal<sup>11, 14, 18, 29, 37, 56, 78, 100, 142, 163, 175, 176, 217, 247, 249</sup>. Correlaciona-se a mortalidade aos fatores de risco do pré-operatório e às complicações do pós-operatório. Dentre todas as complicações, as infecciosas são as mais frequentes<sup>78, 217, 219, 247</sup> e podem comprometer, por sua vez, vários órgãos e sistemas<sup>100, 103, 208, 277</sup>. As análises discriminantes de múltiplas variáveis do pré-operatório corroboram as evidências de interdependência funcional de vários órgãos e sistemas<sup>32, 223, 265</sup>. Essas repercussões graves da síndrome séptica ocorrem frequentemente sem a demonstração da presença de bactérias ou da localização da origem da infecção<sup>102, 103, 208</sup>. Com ou sem evidência de bactérias, incrimina-se a endotoxemia como o fator nóxico mais importante na patogenia das alterações da coagulação, das disfunções hemodinâmicas, do fígado, dos rins e de outros órgãos<sup>5, 44, 284</sup>. São as endotoxinas, portanto, determinantes das manifestações mórbidas e de eventuais casos fatais na icterícia obstrutiva<sup>17, 121</sup>.

Na circulação de 35 a 75 % dos pacientes com icterícia obstrutiva, encontra-se o produto tóxico das bactérias Gram-negativas intestinais<sup>46, 122, 290, 300</sup>. Sabe-se pouco dos mecanismos que predis põem esses doentes a esta invasão de toxinas da flora intestinal. A maioria, mas nem todos os investigadores, responsabiliza, por isto, a ausência de bile na luz intestinal<sup>44, 46, 56, 229</sup>. Esta teoria apóia-se na demonstração *in vitro* do efeito antiendotoxina dos sais biliares<sup>244</sup>, reforçando-se nos benefícios que se consegue pela drenagem biliar interna, e na ausência de reversão da endotoxemia pela derivação externa<sup>104, 105</sup>. Essa concepção debilita-se quando outros grupos obtêm resultados equivalentes com ambos os procedimentos e, também, na falta de constância nos efeitos da administração oral de sais biliares<sup>37, 39, 44, 45, 56, 72, 142, 162, 176, 205, 288</sup>. Outras substâncias, como a lactulose, antibióticos inabsorvíveis e sistêmicos, apresentam também conseqüências variáveis, ainda que teoricamente se comportem de maneira semelhante aos sais biliares<sup>45, 125, 126, 193, 276</sup>. Além disso, na icterícia obstrutiva, surpreendem-se níveis semelhantes de endotoxinas na veia porta e no

sangue sistêmico<sup>44, 46, 72, 104, 126</sup>, quando seriam de se esperar níveis maiores no sangue que traz as toxinas do intestino, e menores no da grande circulação<sup>56, 72, 122</sup>. Este comportamento indica que existe uma deficiência de captação desses produtos e de bactérias pelo sistema retículo-endotelial hepato-lienal ou existem outras fontes produtoras de endotoxinas<sup>80, 117, 189, 228, 297</sup>.

O sistema retículo-endotelial do fígado e do baço contém aproximadamente 80 % dos macrófagos fixos do corpo<sup>270</sup> e remove cerca de 96 % das bactérias circulantes<sup>143</sup>. O desaparecimento desses microorganismos e de suas toxinas é significativamente mais lento na icterícia obstrutiva<sup>19, 76, 117, 273</sup>. Essas comprovações se repetem quase universalmente<sup>57, 109, 132, 164, 226, 229</sup> e, em consequência, aceita-se a deficiência funcional do sistema retículo-endotelial do fígado como incontestável.

Por outro lado, a bactibilia é freqüente nas afecções biliares obstrutivas, onde também se formam endotoxinas, e se associa a manifestações clínicas, complicações e mortalidade idênticas àquelas imputáveis às fontes intestinais<sup>12, 72, 100, 189, 206, 212, 270, 297</sup>. A consolidação desta hipótese fundamenta-se na abolição da endotoxemia por drenagem da via biliar, tanto para o intestino quanto para o exterior<sup>56, 72</sup>, e na constatação de que as imunoglobulinas, muco e sais biliares podem estar inalterados após a drenagem<sup>183, 184, 228</sup>.

Em contraposição, as endotoxinas ou bactérias, presentes no sangue da veia porta, penetram facilmente o sistema biliar, numa relação diretamente proporcional às pressões intraductais<sup>270, 271</sup>. Dificilmente se pode conceber que esses microorganismos e seus produtos tóxicos se originem de local que não seja a luz intestinal.

Quando se analisam os dados anteriores em conjunto, notam-se indícios de que a luz intestinal é a principal fonte de endotoxinas, ainda que não se consiga estabelecê-la como única, e nem correlacioná-la à ausência de bile no intestino. A deficiência funcional dos sistemas imune e de fagocitose, responsável pelo prolongamento do tempo de endotoxemia e de bacteriemia, não é suficiente para se compreender a facilitação na translocação de partículas intestinais e de microorganismos para a circulação. Se nem as modificações na flora intestinal<sup>44, 276</sup>, nem as alterações imunes celulares são suficientes para se explicarem a freqüência e intensidade da endotoxemia, é provável que o defeito predominante esteja na parede intestinal<sup>181</sup>.

Há evidências de que as alterações da parede intestinal dependem de fatores que não são exclusivos da obstrução biliar. Assim, as toxinas das bactérias Gram-negativas são, por si sós, suficientes para promoverem alterações anatômicas e funcionais idênticas às daquelas do intestino na colestase<sup>63, 68, 69, 70, 188</sup>. Geram produtos danosos como os radicais livres do oxigênio<sup>70, 226</sup>, citocinas<sup>170</sup>, alterações no aporte e utilização de nutrientes<sup>151, 263</sup>, depressão de fagócitos da mucosa intestinal, dos linfonodos mesentéricos e de outros setores<sup>92, 109, 170, 195, 278, 286</sup>. Esses fatores, principalmente as citocinas<sup>153, 170</sup>, além de atuarem localmente, produzem intensas alterações regionais e sistêmicas<sup>70, 92, 170, 192</sup>. O resultado é uma intensa modificação na homeostase, conseqüente às alterações funcionais dos vasos e da bomba central<sup>35, 108, 122, 204</sup>. Concomitantemente, nas colestases prolongadas, cria-se um regime de hipertensão portal<sup>34, 36, 95, 181, 243</sup> com diminuição do fluxo hepático<sup>159, 181, 281</sup>. O conjunto desses fenômenos é capaz de alterar a circulação da parede intestinal<sup>252</sup>, que se manifesta por alterações microscópicas muito semelhantes às daquelas da sepse, do choque, do estresse<sup>63, 64, 68, 69</sup>. Na icterícia obstrutiva, esse conjunto atua de maneira exacerbada<sup>109, 226</sup> e superajunta-se à desnutrição<sup>94, 77</sup>, com um desequilíbrio da flora intestinal, traduzido por desproporção entre aeróbios e anaeróbios<sup>21, 122, 267, 271, 294, 295, 297, 301</sup>. Outros fatores provavelmente existem, interagem entre si, e permitem que bactérias e endotoxinas intestinais ultrapassem a barreira intestinal com mais facilidade. As tentativas de melhorar a nutrição<sup>62, 138, 149, 161, 168</sup>, diminuir a infecção<sup>67, 68</sup> ou melhorar a circulação<sup>68, 263</sup> não parecem restituir o aspecto anátomo-funcional da parede intestinal.

Sabe-se que o grau de nutrição em si não é suficiente para manter a integridade da parede intestinal<sup>168</sup>. A alimentação oral diminui as alterações da mucosa<sup>149</sup>. Entretanto, na icterícia, há diminuição na ingestão e utilização dos nutrientes, e alterações da mucosa podem ocorrer<sup>69, 94, 165, 256, 262</sup>. Sabe-se que as células intestinais não conseguem nutrir-se dos aminoácidos essenciais habituais, mas dependem de um aminoácido único, não essencial, a glutamina<sup>42, 112</sup>. Há depleção na concentração de glutamina plasmática em torno de 20-30 %, e no músculo esquelético em mais de 50 %, principalmente quando ocorre infecção<sup>40</sup>. Este aminoácido protege, restaura e mantém os enterócitos com função normal, mesmo nas condições adversas<sup>257, 258</sup>. Conserva a secreção, também, de imunoglobulinas pela bile e as restaura na lâmina própria, mantendo a integridade funcional da população de células T e B<sup>7, 8, 43</sup>.

## 1.1 OBJETIVO.

Do exposto, pode-se conjecturar que, se a barreira mucosa se mantiver intacta, é possível que haja diminuição na translocação de bactérias e de endotoxinas para a circulação. Se assim for, as endotoxinas não contribuirão para a depressão funcional do sistema retículo-endotelial, e a função se manterá dentro dos parâmetros normais. Assim, o objetivo deste estudo é testar a influência da dieta enriquecida por glutamina na capacidade de captação de bactérias marcadas pelos fagócitos monomorfonucleares, quando injetadas por veia periférica, nas várias fases evolutivas da icterícia obstrutiva.

## 2. MÉTODO

Utilizaram-se ratos Wistar machos, fornecidos pelo Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR), que foram divididos em dois grandes grupos, de acordo com a dieta. O grupo que recebeu exclusivamente ração balanceada e água foi designado Grupo Ração. O Grupo Glutamina recebeu a mesma ração do grupo anterior, água e a complementação com glutamina. Ofereceram-se as respectivas dietas *ad libitum* aos animais assim classificados, do início do período de adaptação, de 6 a 10 dias, até o final da observação.

A ração balanceada foi Nuvilab-CR1 (Nuvital, Curitiba), composta de produtos e subprodutos do milho, trigo, soja, farinhas de peixe e de carne, além de sais minerais, lisina e metionina. Esses componentes continham aproximadamente 23 % de proteínas, 6% de fibras, 1,4% de cálcio, 0,8% de fósforo, 1-4 % de lisina e 3-4 % de metionina.

A dieta complementar foi Imunonutril Diet (Support, Rio de Janeiro), cedida por Pro-Diet, Curitiba. Os carboidratos, na maior parte polissacarídeos, totalizaram 65,1% do peso total, as proteínas 18,85%, os lipídios 9,52%. A L-glutamina representou 8,5% e a L-arginina 19,4% do total de proteínas. Os lipídios foram compostos por ácidos graxos essenciais, triglicerídeos de cadeia média e ácidos graxos marinhos poli-insaturados. Além disso, havia sais minerais, oligoelementos e vitaminas.

Alojaram-se os ratos em gaiolas, com 5 animais em cada uma. No final do período de adaptação, todos os animais foram operados. Os que foram destinados ao subgrupo controle, sofreram obstrução biliar cirúrgica simulada; os demais, oclusão do ducto comum extra-hepático, que passaram a pertencer aos subgrupos com icterícia. Após os procedimentos, os ratos retornaram às gaiolas de origem, onde permaneceram por períodos variáveis, de acordo com os subgrupos aos quais se destinaram, respectivamente, 7, 14 e 21 dias. Os controles permaneceram nas gaiolas por 14 dias, por causa da uniformidade no comportamento, nas três semanas, verificado em ensaios preliminares.

Estudos anteriores<sup>219</sup>, realizados neste laboratório, propiciaram condições para a predição do peso dos animais, no final de cada período de observação. Dessa forma, selecionaram-se ratos com pesos idênticos, destinados aos testes.

Para esta fase, alocaram-se 56 ratos, com pesos entre 278 e 302 g (média  $290,042 \pm 7,638$  g.). Destes, ao longo dos testes, foram desprezados 8 animais, por razões diversas: deslize na obtenção de amostras do sangue, falha no equipamento, cianose durante a anestesia etc. Restaram 48 ratos, assim distribuídos:

<b>Grupo ração</b>		<b>Grupo glutamina</b>	
Subgrupos:	Controle = 6 ratos	Subgrupos:	Controle = 5 ratos
	7 dias = 7 ratos		7 dias = 6 ratos
	14 dias = 6 ratos		14 dias = 6 ratos
	21 dias = 6 ratos		21 dias = 6 ratos

## 2.1 PROCEDIMENTOS OPERATÓRIOS.

Anestesiaram-se os ratos com éter sulfúrico. Após a indução anestésica, posicionaram-se os animais em decúbito dorsal, numa prancha de cortiça, através de 4 alças elásticas que prenderam as porções distais dos membros anteriores e posteriores. Manteve-se o plano anestésico adequado, pela inalação de éter. Para tanto, colocou-se algodão, embebido em éter, no fundo de um pequeno funil, cuja boca se aproximou das vias aéreas superiores, de tal modo a se regular o aporte de ar e do anestésico.

Procedeu-se à tricotomia da região ântero-superior do abdome, onde se realizou a celiotomia vertical, mediana, de 1 a 1,5 cm., com técnica estéril. Nos subgrupos controles, tracionou-se o duodeno, identificou-se o ducto biliar principal e reconstituiu-se a parede com pontos subtotais de Mononylon® n° 3-0. Aproximaram-se as bordas da pele com sutura contínua intradérmica, com o mesmo fio, de n° 4-0. Nos subgrupos em que se desejou provocar a icterícia, além das manobras anteriores, realizou-se a dupla ligadura do ducto principal, cerca de 2 mm abaixo da confluência dos ductos hepáticos, de acordo com a técnica descrita por Lee <sup>146</sup>. Realizou-se a transecção do ducto, distalmente à dupla ligadura, com o fio monofilamentado n° 5-0. Mudou-se a orientação da porção distal do ducto comum, que se tornou paralela à grande curvatura do estômago, através de fenda criada no

mesoduodeno, conforme as recomendações de Holmberg e colaboradores<sup>119</sup>. A reconstituição da parede foi idêntica à dos controles.

## 2.2 MARCAÇÃO DAS BACTÉRIAS COM RADIOISÓTOPO.

Cultivaram-se bactérias do grupo *Escherichia coli* (ATCC 25922, American Type Culture Collection), em caldo de peptona e levedura (*peptone and yeast broth*), até o final da fase exponencial de crescimento, no Laboratório de Microbiologia do Hospital de Clínicas da UFPR. No fim desse prazo, lavaram-se as bactérias em solução fisiológica tamponada (pH 7,2), por três vezes, a 1700 rpm, durante 10 minutos<sup>85</sup>. Suspenderam-se os bacilos novamente, na mesma solução tamponada por fosfato, e ajustaram-se as concentrações por espectrofotometria (absorbância aos 540 nm.), que corresponderam aproximadamente a  $10^9$  unidades formadoras de colônia (UFC) por ml. Conferiram-se as concentrações por semeadura em diluições seriadas, e leitura após 24 horas de incubação.

Transferiram-se 6 ml da suspensão final para um tubo cônico, centrifugado-o a 1500 rpm, por 10 minutos. Desprezou-se o sobrenadante e, à porção comprimida pela centrifugação, adicionou-se 0,4 ml de tampão fosfato (pH 7,3), 74 Mbq (2 mCi) de  $\text{Na}^{131}\text{I}$  sem carreador e 4 mg de cloramina T (Merck). Misturou-se suavemente, permitindo as reações durante 15 minutos, em temperatura ambiente. Decorrido esse tempo, sustou-as a adição de 8 mg de metabissulfito de sódio. Novamente, centrifugação e eliminação do sobrenadante. Suspenderam-se as bactérias, que ficaram no fundo, com 5 ml de solução salina isotônica. Conseguiu-se a remoção do iodo livre através da remoção do sobrenadante, após cada centrifugação. Repetiram-se esses procedimentos por três vezes. Depois da terceira lavagem, transferiram-se os microorganismos para outro tubo e foram realizadas duas lavagens adicionais, com 2 ml de solução salina isotônica. Procedeu-se ao controle do  $^{131}\text{I}$  livre por cromatografia ascendente, em papel Whatman nº1<sup>236</sup>. Aceitaram-se valores de até 2% das contagens de radioisótopos livres.

Reconstituiu-se o volume inicial da suspensão de bactérias com solução salina tamponada. Dividiu-se o total em frações tais que aproximadamente  $0,8$  a  $1,0 \cdot 10^9$  UFC corresponderem a cerca de  $432156 \pm 19137$  contagens por minuto (cpm). Considerou-

se aceitável essa variação no número de Gram-negativas, porque não modifica o índice de fagocitose<sup>24</sup>.

### 2.3 PROTOCOLO EXPERIMENTAL.

Os animais receberam água *ad libitum* até a realização do experimento e a dieta foi suspensa aproximadamente 60 minutos antes. Para os testes, anestesiaram-se os animais e nova laparotomia foi realizada, no intuito de se inspecionar a cavidade, principalmente o aspecto do duto biliar principal. Os animais testados não apresentaram quaisquer indícios macroscópicos de peritonite ou de colangite. Ao mesmo tempo, fez-se pequena incisão na região supraclavicular direita, de modo a identificar a veia jugular, destinada à punção para a injeção do inóculo. O mesmo se fez na prega inguinal direita, para identificação da veia femoral e introdução de cateter Insyte® (Beckton-Dickinson) n° 24, destinado à colheita de sangue.

#### 2.3.1. Declínio das contagens no sangue.

Após a injeção venosa do inóculo, em aproximadamente 4 a 6 segundos, colheram-se amostras de 0,2 ml de sangue, aos 30 segundos, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12 e 15 minutos. À cada colheita, utilizou-se uma seringa ( n°1 ), com paredes umedecidas em heparina, destinada a aspirar 0,1 ml de líquido, que correspondeu a pouco mais do que a capacidade volumétrica do cateter utilizado. Com outra seringa ( n°2 ), preparada com 100 U de heparina e contendo solução salina isotônica *q.s.* para 0,8 ml, aspiraram-se 0,2 ml de sangue venoso, que, pelo comprimento do cateter, correspondeu ao sangue da cava inferior. Um dos colaboradores agitou a seringa suavemente e, em seguida, transferiu o seu conteúdo para um tubo de ensaio de plástico padronizado, de modo a se manter a geometria constante. Cada tubo foi imediatamente depositado num recipiente de chumbo, no refrigerador do laboratório. Ao mesmo tempo, o operador reinjetou o conteúdo da seringa n°1 e 0,2 ml de soro (0,1 ml de solução isotônica de cloreto de sódio e Ringer lactato, 0,1 ml), contido numa terceira seringa, destinado a compensar o volume de sangue aspirado.

Contaram-se as emissões radiativas <sup>130</sup> de cada amostra numa unidade de captação nuclear, acoplada a um poço de cintilação de 2 polegadas( Nuclear Chicago, modelo 8725), no Laboratório de Medicina Nuclear do Hospital de Clínicas da UFPR. Determinou-se a janela a ser utilizada, pela curva de rendimento do <sup>137</sup>Cs, por causa da sua estabilidade <sup>130</sup> e pela semelhança com a janela do <sup>131</sup>I. Durante a utilização do aparelho, realizou-se um mapa diário de irradiação de fundo ( BG ), no sentido de se detectarem contaminações ou de se realizarem pequenos ajustes finos, para as contagens mais baixas. Cada medida foi realizada, no mínimo, três vezes. Repetiram-se as operações sempre que os coeficientes de variação ultrapassaram os 5%, nas determinações mais altas, e de 10%, nas leituras de valores mais baixos. Para cada conjunto de medidas, realizou-se o mesmo procedimento para a determinação do BG, cuja média se descontou da média dos valores do sangue para o tempo correspondente. Anotaram-se os resultados numa planilha.

Após a injeção da solução com bactérias marcadas, aspirou-se 1 ml de solução salina isotônica e se contaram as emissões residuais por minuto na seringa. As medidas serviram para simples conferência da média residual (  $11,24 \pm 1,9\%$  ), mas não foram utilizadas para cálculos, por causa da variação na geometria da seringa em relação aos tubos anteriormente descritos.

O poço de cintilação permaneceu lacrado nos períodos em que não se realizaram experimentos.

1. *Cálculos.* Utilizaram-se as médias das cpm, tratadas da maneira anteriormente descrita, obtidas do primeiro ao sexto minutos <sup>31</sup>, para a realização de regressão exponencial, com valores da ordenada ajustados pelos mínimos quadrados <sup>75</sup>. Obtiveram-se, desse modo, o coeficiente de correlação - que indicou indiretamente a precisão de todo o procedimento, o coeficiente angular e o valor do intercepto. Considerou-se o coeficiente angular como sendo o índice geral de fagocitose  $k$  <sup>31, 76, 286</sup>, idêntico ao que proporcionam os cálculos propostos por Benacerraf e colaboradores <sup>24</sup>. O valor do intercepto serviu para os ajustes ao valor do total injetado. Para tanto, assumiu-se que o volume sangüíneo dos ratos foi de aproximadamente 7% do seu peso corpóreo, por ser o valor que mais se aproximou de avaliações indiretas preliminares e da média das avaliações da literatura <sup>26, 30, 31, 79, 211</sup>. Com isso, a média ficou em torno de  $4 \cdot 10^5$  cpm (  $I$  ), que foi adotada como padrão para os ajustes de todos os valores.

Para se estabelecer a captação corrigida total pelos órgãos, após 15 minutos de teste, utilizou-se a seguinte fórmula, inspirando-se naquelas descritas por Biozzi e colaboradores<sup>30</sup>:

$$Cp_c = \left[ I - Ie^{-kt} - \left( y_{t=0,5} + y_{t=1} + \sum_{t=1}^6 \left( \frac{(1+(-1)^{2t})}{2} * y_{2t} \right) + y_{t=15} \right) \right] \div I \quad (1)$$

Em que  $Cp_c$  é o percentual corrigido de captação pelos órgãos;  $I$  é o total de cpm injetados;  $Ie^{-kt}$  permite o cálculo da quantidade total que permanece no sangue, no tempo  $t=15$  minutos em relação ao índice de fagocitose  $-k$ ; a equação, entre parênteses, é a soma dos cpm de todas as amostras de sangue, ao longo do tempo de observação.

### 2.3.2 Distribuição do inóculo pelos órgãos.

Imediatamente após a última colheita de sangue do animal em observação, ou seja, aos 15 minutos, aspirou-se o máximo possível de sangue, em seringa com heparina, para a medida do hematócrito e dosagens bioquímicas. Ao mesmo tempo, outro operador seccionou o gradil torácico, nas linhas axilares anteriores, elevando-o no sentido cranial, de tal modo a expor os órgãos cárdio-respiratórios. Houve o cuidado de se fazer coincidir o final da aspiração do sangue com a abertura do tórax. Procedeu-se a pequena incisão na aurícula direita, puncionou-se o ventrículo esquerdo com agulha n° 10 (Beckton-Dickinson), injetando-se 20 ml de soro fisiológico isotônico, rapidamente, com a intenção de eliminar parte do sangue da circulação dos órgãos. Injetaram-se 10 ml adicionais de soro, sempre que o líquido eliminado pela ferida da aurícula permanecesse muito avermelhado. Em seguida, injetaram-se de 40 a 60 ml de formalina tamponada a 10%. Tomou-se o cuidado de executar toda a operação em não mais do que 30 segundos, após a abertura do tórax.

Ligou-se o brônquio esquerdo. Identificou-se, imediatamente depois, a traquéia onde, por incisão entre dois anéis traqueais, introduziu-se cateter de polietileno de diâmetro externo de 1,4 mm. Injetou-se formalina pelo cateter traqueal com pressão de 30

cm de H<sub>2</sub>O, até que o pulmão direito se expandisse uniformemente. Ligou-se, então, o brônquio direito, extirpando-se o pulmão correspondente, mergulhando este órgão, a seguir, em frasco com formalina a 10%, tamponada, para a histologia. O pulmão esquerdo se destinou às medidas das desintegrações do isótopo.

Ligou-se o íleo, junto a sua união com o ceco. Introduziu-se um cateter, na luz ileal, aproximadamente 2 cm à montante, por onde se injetou formalina numa pressão de 30 cm H<sub>2</sub>O. Ligou-se a porção proximal do íleo, junto ao local da penetração do cateter, cujo segmento ressecado também foi mergulhado num frasco com formalina, destinado à histologia.

Retiraram-se cuidadosamente o linfonodo mesentérico, fígado, baço e rins, que foram lavados. Cada órgão, inclusive o pulmão esquerdo, foi colocado em pequenos envelopes plásticos, com pesos previamente determinados. Cada cartucho com a peça foi novamente pesado e o peso do invólucro deduzido. Evitaram-se, dessa maneira, as alterações do peso por evaporação e a contaminação radiativa dos instrumentos do laboratório.

Desses órgãos, retiraram-se fragmentos de volumes idênticos, através de instrumento construído com lâminas de barbear paralelas, substituíveis após o uso, em cada peça. Nos órgãos como o fígado, baço e rim, realizaram-se dois cortes perpendiculares, no intuito de se manterem os fragmentos com tamanho e formas idênticos. Colocaram-se os pedaços no fundo de tubos análogos aos usados para as contagens no sangue, simulando-se a sua geometria. Selaram-se as bocas dos tubos e se pesaram para a determinação do peso dos fragmentos, uma vez deduzidos os pesos dos recipientes. Fatias padronizadas, de cada um dos órgãos sólidos, destinaram-se ao estudo através de microscópico óptico.

Mediram-se as cpm dos fragmentos contidos nos tubos, no mesmo poço anteriormente descrito, com a mesma sistemática. Das médias das captações descontaram-se as médias das contagens BG.

1. *Cálculos.* Ajustaram-se os valores assim obtidos, do fragmento de cada órgão, para 1 g, através da divisão das cpm obtidas pelo peso do tecido testado. Anotaram-se os resultados numa planilha eletrônica. Em seguida, multiplicaram-se os valores de 1 g de tecido pelo peso total do órgão correspondente, cujos resultados também se locaram na planilha. Obtiveram-se, assim, as cpm/g de tecido e as cpm/órgão.

Somaram-se as cpm dos órgãos, para se obter o total de cpm do conjunto de órgãos testados. Tomou-se o cuidado de se duplicarem os valores dos órgãos duplos, pulmões e rins, assumindo-se que seus pesos e a distribuição do inóculo foram simétricos. Dividindo-se as cpm, de cada órgão, pelo total de cpm, resultantes da soma dos valores individuais, obteve-se a distribuição percentual do inóculo.

Como as medidas se destinaram a comparações da eficiência na captura do sistema mononuclear de fagocitose, ajustaram-se todos esses valores da planilha eletrônica, em relação ao valor ideal do inóculo, através de coeficiente de correção, obtidos da seguinte fórmula:

$$I / I_m = c_{oef1} \quad (2)$$

em que  $I$  representa o inóculo ideal,  $I_m$  é o inóculo medido. Além disso, as médias dos valores assim tratados, em cada subgrupo, aproximaram-se dos valores teóricos obtidos das medidas do sangue. Procedeu-se a novo ajuste na planilha, através de coeficiente individual, obtido da seguinte fórmula:

$$Cp_c / (Ct_m / I_m) = c_{oef2} \quad (3)$$

em que  $Cp_c$  é o resultado dos cálculos obtidos da fórmula(1);  $Ct_m$  representa a captação total dos órgãos efetivamente medida e  $I_m$  representa a medida real das cpm do inóculo. Com a aplicação desses fatores de correção, obtiveram-se os valores corrigidos de captação por grama de tecido e pelo órgão inteiro, indicando, respectivamente, a capacidade de captação e, eventualmente, de englobamento dos fagócitos e a distribuição desses atributos pelos órgãos estudados.

### 2.3.3 Histologia.

Incluíram-se as amostras dos tecidos em blocos de parafina, cortaram-se em películas de 2  $\mu$ m de espessura, que se coraram por hematoxilina e eosina. Seccionaram-se os cilindros de intestino, longitudinalmente, na borda livre do intestino, seguindo-se o mesmo processo de inclusão e de coloração.

Estudaram-se as lâminas dos vários órgãos, por microscopia óptica, para a avaliação das alterações nos tecidos, provocadas pela icterícia obstrutiva. Compararam-se as alterações mais chamativas dos subgrupos, entre si e entre os dois grupos de nutrição.

Utilizando-se ocular dividida em quadrantes, contaram-se as células com características compatíveis com as de Kupffer, em 6 campos diferentes em cada lóbulo, sendo três periféricos e três próximos à veia centrolobular. Repetiram-se as contagens em 3 a 5 lóbulos em cada lâmina, cujas médias se locaram em planilha. De modo semelhante, contaram-se os macrófagos alveolares em cinco alvéolos em, pelo menos, cinco regiões diferentes, por lâmina.

Estudou-se a mucosa do intestino, com aumento inicial de 40 x, contando-se o número de vilosidades por campo. Avaliaram-se de 5 a 10 campos, por lâmina. Os aspectos das vilosidades foram anotados, tomando-se especial atenção à proporção entre altura e largura. Estudou-se também a proporção entre vilosidades e criptas, nos mesmos campos. Além disso, avaliaram-se as vilosidades de cada campo pela classificação sugerida por Montgomery e colaboradores<sup>171</sup> e por Haglund e colaboradores<sup>111</sup>:

Peso 0 = Intestino normal

- 1 = Desenvolvimento de pequeno espaço subepitelial na extremidade da vilosidade.
- 2 = Separação do epitélio na extremidade da vilosidade.(lifting)
- 3 = Separação maciça da mucosa, inclusive da porção lateral da vilosidade.
- 4 = Desnudação das vilosidades ou alteração do epitélio e perda de parte do epitélio.
- 5 = Desintegração da lâmina própria, hemorragia e ulceração da mucosa, mas com conservação das túnicas mais profundas da parede intestinal.

Locou-se, numa planilha auxiliar, a freqüência de cada escore ( $f_s$ ) em relação ao número de vilosidades por campo ( $V$ ), como a razão ( $R_s$ ) entre esses dois parâmetros respectivos:

$$R_s = f_s / V$$

(4)

Repetiu-se todo o processo, para cada campo da mesma lâmina. Para cada animal  $n$ , transformaram-se essas razões em médias, correspondentes à cada escore  $s$  ( $\bar{x}_{s,n}$ ).

$$\bar{x}_{s,n} = \Sigma R_s / N_c \quad (5)$$

em que  $N_c$  é o número de campos estudados.

Em seguida, multiplicou-se a média das razões de cada escore ( $\bar{x}_{s,n}$ ), pelo seu peso correspondente  $s$ :

$$\bar{x}_{s,n} \cdot s = \bar{X}_{s,n} \quad (6)$$

Finalmente, somaram-se os resultados ( $\bar{X}_{s,n}$ ) do tratamento dos vários pesos, cuja soma representou a grandeza final dos escores de cada animal ( $G_n$ ):

$$G_n = \sum_{i=0}^5 (\bar{X}_{s,n})_i \quad (7)$$

em que  $i$  representa os pesos da gradação histológica.

O mesmo se fez para todos os animais dos respectivos subgrupos. Representou-se cada subgrupo como a média dos somatórios anteriores ( $G_n$ ) e, a sua dispersão, pelo desvio padrão.

### 2.3.4 Tratamento estatístico.

Analisaram-se as seguintes variáveis-resposta: 1 - índice de fagocitose; 2 - percentual corrigido de captação do inóculo pelo total dos órgãos; 3 - percentual de captação por órgão; 4 - captação por grama de tecido de cada órgão estudado; 5 - células de Kupffer; 6 - macrófagos alveolares; 7 - histologia intestinal.

No delineamento experimental, os principais fatores foram a dieta e o tempo, que se fixou aos 7, 14 e 21 dias. Acrescentou-se um nível controle que correspondeu às unidades experimentais, que sofreram operação fictícia. Dessa forma, estatisticamente,

delinearam-se blocos, em relação à dieta ( ração e glutamina ), por casualização, envolvendo cada conjunto dos fatores citados.

O número de unidades experimentais, em cada nível, ficou em torno de 6, variando conforme o que se obteve com cada resposta. Assim, o tamanho da amostra em cada delineamento ficou em torno de  $2*6*4=48$  unidades experimentais. Isto assegurou um poder aos testes acima de 95%, logo, com um erro do tipo II abaixo de 5%. Aplicou-se a análise da variância ao delineamento citado, em cada variável resposta, obedecendo-se às condições de validade da técnica.

Assim, usou-se o modelo

$$y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \xi_{ijk}$$

onde  $y_{ij}$  é a variável resposta;  $\mu$  é a média geral;  $\alpha_i$  é o efeito do fator principal, tempo;  $\beta_j$  é o efeito dos blocos dieta;  $(\alpha\beta)_{ij}$  é o efeito da interação entre tempo e dieta;  $\xi_{ijk}$  é o componente aleatório.

Testaram-se os atributos gaussianos do resíduo  $\xi_{ijk}$ , em cada situação, usando-se o gráfico de probabilidade normal e o procedimento de Filliben<sup>90</sup>. Em todas as ANOVAs aplicadas, obtiveram-se atributos gaussianos, independência e homogeneidade das variâncias dos resíduos. Logo,

$$\xi_{ijk} \sim \mathcal{N}(0, \sigma^2) \quad \text{i.i.d.}$$

sendo i.i.d. independentes, identicamente distribuídos.

A condição de homogeneidade da variância foi verificada pelo gráfico dos resíduos contra os valores ajustados  $\xi_{ijk} * y_{ij}$  e a de independência pelo gráfico dos resíduos contra a ordem  $\xi_{ijk} * i$  em que  $i$  são os animais de 1, 2, ...,  $n = 48$ .

De acordo com os resultados desse procedimento, aceitaram-se ou se rejeitaram as hipóteses nulas quanto à variável analisada:

$H_{01}$ : Não existe diferença entre os tempos, em termos médios.

$H_{02}$ : Não existe diferença entre as dietas, em termos médios.

$H_{03}$ : Não existe interação entre tempo e dieta.

Testou-se, em todos os casos, a hipótese de que existiu diferença nos tempos, considerando o par tempo com ração e tempo com glutamina. Esses dados experimentais, oriundos do delineamento completamente aleatório, em cada variável-resposta, sofreram tratamento paramétrico (teste  $t$ , clássico ou Aspin-Welch) ou não paramétrico (Wilcoxon, Mann-Whitney), conforme a homocedasticia fosse aceita ou não<sup>250, 287</sup>.

As conclusões foram decorrentes dos valores  $p$ .

### 3. RESULTADOS

Os animais, que sofreram operação simulada e foram tomados como controles, tiveram comportamento uniforme. Os ratos com colestase apresentaram pêlo amarelado, nos membros anteriores e, principalmente, nos posteriores. Nenhum deles apresentou sinais de infecção como pêlo hípido, conjuntivite ou prostração.

#### Peso dos órgãos

Nos dois grupos estudados, houve aumento progressivo no peso do fígado, do baço e do pulmão, à medida em que avançou o tempo de colestase. Nas mesmas circunstâncias, o peso dos linfonodos e dos rins pouco se alterou.

A média dos percentuais do peso corpóreo, que cada órgão representou ao longo da evolução da colestase e nas operações fictícias, estão resumidos na tabela 1.

**Tabela 1 : REPRESENTAÇÃO DO PESO DOS ÓRGÃOS COMO PERCENTUAL DO PESO CORPÓREO.**

GRUPOS	Fígado	Baço	Pulmão	Linfonodo	Rim
<b>RAÇÃO</b>					
Controle	4,320(0,311)	0,203(0,026)	0,272(0,021)	0,229(0,020)	0,410(0,015)
7 Dias	4,676(0,539)	0,287(0,014)	0,292(0,037)	0,240(0,015)	0,409(0,023)
14 Dias	5,128(0,155)	0,318(0,032)	0,340(0,033)	0,184(0,027)	0,420(0,040)
21 Dias	6,670(0,720)	0,572(0,090)	0,423(0,018)	0,165(0,037)	0,418(0,008)
<b>GLUTAMINA</b>					
Controle	3,511(0,217)	0,171(0,021)	0,274(0,037)	0,191(0,036)	0,388(0,038)
7 Dias	4,679(0,723)	0,289(0,039)	0,280(0,031)	0,219(0,052)	0,472(0,087)
14 Dias	5,708(0,465)	0,318(0,056)	0,300(0,062)	0,206(0,060)	0,438(0,071)
21 Dias	6,683(0,562)	0,483(0,116)	0,333(0,083)	0,187(0,042)	0,409(0,071)

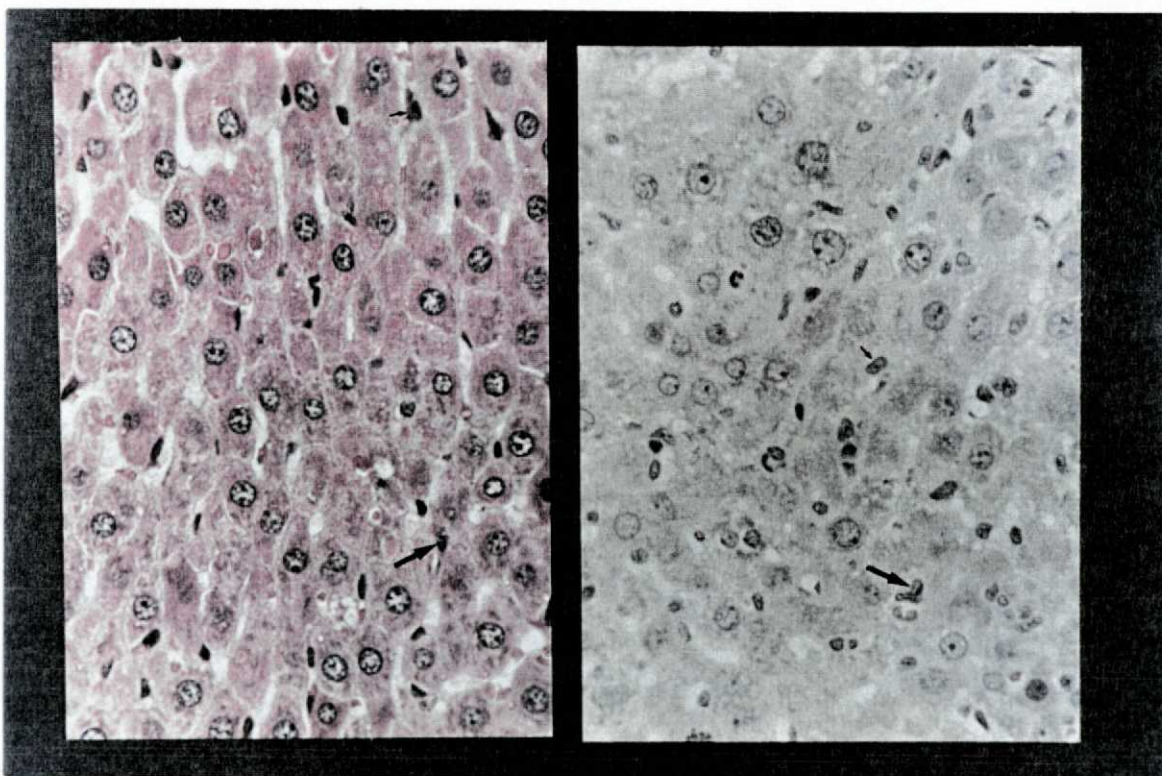
Representação das médias (desvio padrão) dos percentuais do peso dos órgãos, em relação ao peso corpóreo do animal correspondente.

### 3.1 HISTOLOGIA GERAL.

#### 3.1.1 Histologia do fígado

Nos dois grupos, o fígado dos controles apresentou características normais.

Na icterícia, houve correspondência entre as modificações teciduais nos subgrupos, submetidos aos dois regimes dietéticos. As alterações foram crescentes, no sentido do tempo de obstrução biliar. Atingiram o grau máximo no final da terceira semana, quando se observou notável aumento no número de ductulos biliares, que pareciam invadir o parênquima hepático, em direção à região periportal, através da lâmina limitante. Nessa etapa da evolução da icterícia, a maioria dos espaços portais adjacentes estava unida pelo processo anterior, notando-se a formação mínima de tecido fibroso e diminuta infiltração de células inflamatórias. A presença desse pequeno número de células inflamatórias caracterizou a colangite, que pôde ser rotulada como reacional.



**Figura 1.** Cortes do fígado: à esquerda, o aspecto é normal; à direita, o exemplo de 21 dias de colestase, onde se observam hipertrofia e hiperplasia das células de Kupffer.

Paralelamente, houve aumento progressivo no número e no tamanho das células relacionadas aos sinusóides. Assim, as células, com características microscópicas compatíveis com as de Kupffer, apresentaram hiperplasia e hipertrofia gradativas: figura 1.

As médias das contagens desses fagócitos, em cada campo da microscopia, nas várias circunstâncias, estão representadas na tabela 2 e na figura nº 2. As diferenças entre os animais com colestase e os controles foram significativas. Não houve, porém, diferença entre os subgrupos correspondentes, assim como não se detectou interação entre os grupos.

### 3.1.2 Histologia do baço

Não se encontraram diferenças expressivas entre os dois grupos estudados. Na colestase houve aumento progressivo e discreto no número de folículos secundários, cujos mantos dos centros germinativos apresentaram extensão variável.

**Tabela 2: MÉDIAS DO NÚMERO DE CÉLULAS DE KUPFFER, POR CAMPO.**

SUBGRUPOS	GRUPOS	
	RAÇÃO	GLUTAMINA
Controle	56,62 (5,84)	62,43 (3,49)
7 Dias	81,54 (2,86) $\tau\tau$	82,19 (4,29) $\tau\tau\tau$
14 Dias	76,39 (9,86) $\tau\tau$	89,25 (6,60) $\tau\tau\tau$
21 Dias	97,86 (4,02) $\tau\tau\tau$	103,25 (6,93) $\tau\tau\tau$
	N.S	

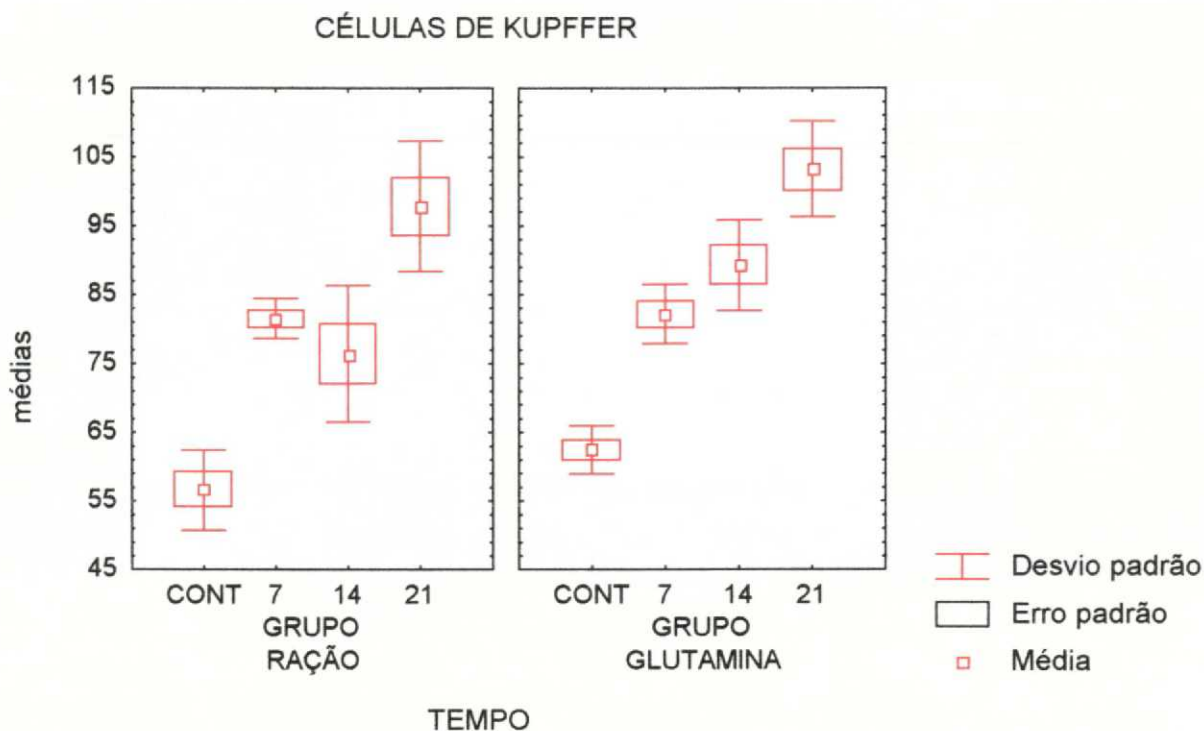
ANOVA Representação das médias das leituras por subgrupo (desvio padrão)

Análise aos pares: \*

Análise em relação aos controles do mesmo grupo:  $\tau$

Análise conjunta  $\rightarrow$  interação:  $\partial$

\*  $\tau \partial = p \leq 0,05$     \*\*  $\tau\tau \partial\partial = p \leq 0,005$     \*\*\*  $\tau\tau\tau \partial\partial\partial = p \leq 0,0001$

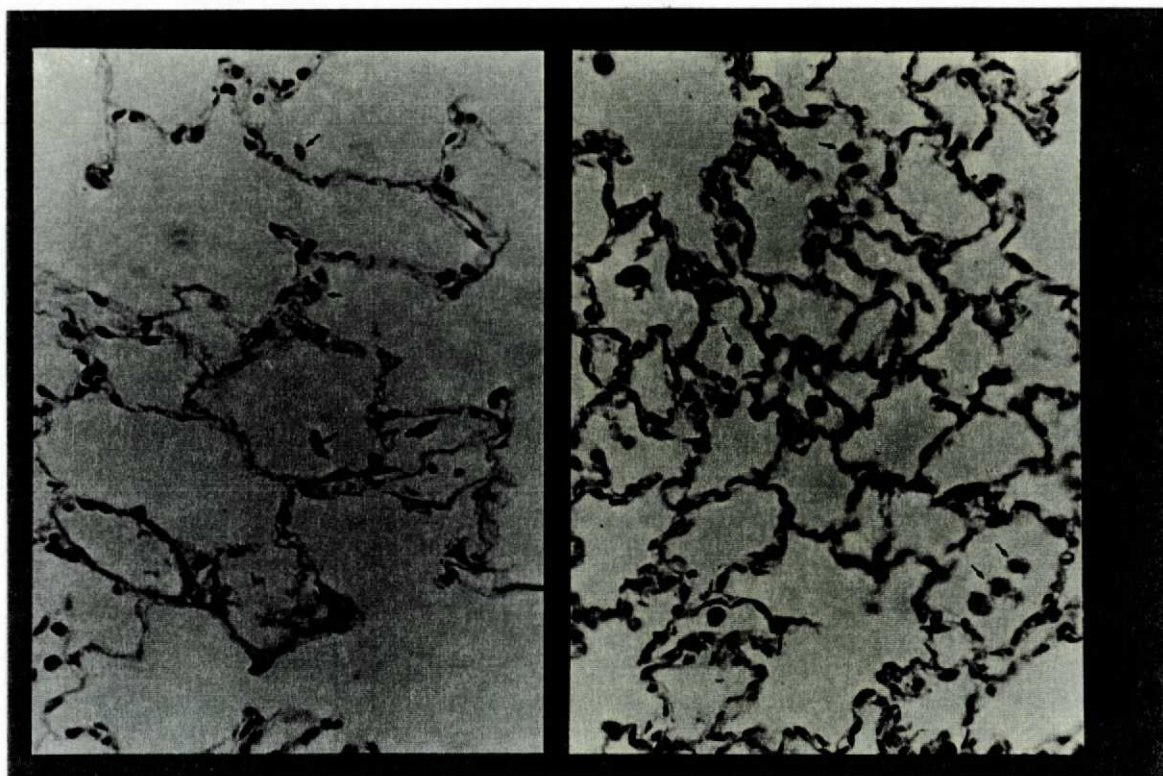


**Figura 2: Comparação das médias do número de células de Kupffer, por campo, entre os grupos tratados com ração e com glutamina.**

### 3.1.3 Histologia do pulmão

Os aspectos microscópicos dos controles foram idênticos entre si e semelhantes aos padrões da normalidade.

No final da terceira semana de icterícia, houve aumento discreto nas células mononucleares e polimorfonucleares da microcirculação alveolar, em ambos os grupos. A predominância foi dos mononucleares sobre os granulócitos. Na figura 3, demonstram-se exemplos dos extremos, em que as setas apontam os fagócitos alveolares. No grupo tratado com ração, além disso, houve a presença de hemácias empilhadas em alguns capilares e, eventualmente, edema septal, maior número de polimorfonucleares e raros eritrócitos, na parede e no interior de alguns alvéolos.



**Figura 3.** Cortes de pulmão em que o exemplo do controle está à esquerda; o exemplo de 21 dias de icterícia está à direita.

*I - Média do número de pneumócitos II, por 5 alvéolos.*

As médias das contagens dos pneumócitos II estão representados na figura 4 e na tabela 3. Não houve influência da dieta, no número dessas células, assim como da colestase em relação à operação simulada.

*II - Média do número de macrófagos alveolares por 5 alvéolos.*

A dieta com glutamina manteve o número de macrófagos do controle, nas primeira e segunda semanas, e aumentou na terceira semana de impedimento do fluxo biliar. No vigésimo-primeiro dia, o comportamento dos macrófagos alveolares foi o contrário no

Tabela 3: MÉDIAS DO NÚMERO DOS PNEUMÓCITOS II , POR 5 ALVÉOLOS.

SUBGRUPOS	GRUPOS	
	RAÇÃO	GLUTAMINA
Controle	11,92 (3,84)	11,36 (0,29)
7 Dias	11,16 (2,31)	10,00 (1,37)
14 Dias	9,05 (0,91)	9,60 (1,46)
21 Dias	9,15 (2,95)	11,50 (2,40)

$\partial$ .

ANOVA Representação das médias das leituras por subgrupo (desvio padrão).

Análise aos pares: \*

Análise em relação aos controles do mesmo grupo:  $\tau$

Análise conjunta  $\rightarrow$  interação:  $\partial$

\*  $\tau \partial = p \leq 0,05$  \*\*  $\tau \tau \partial \partial = p \leq 0,005$  \*\*\*  $\tau \tau \tau \partial \partial \partial = p \leq 0,0001$

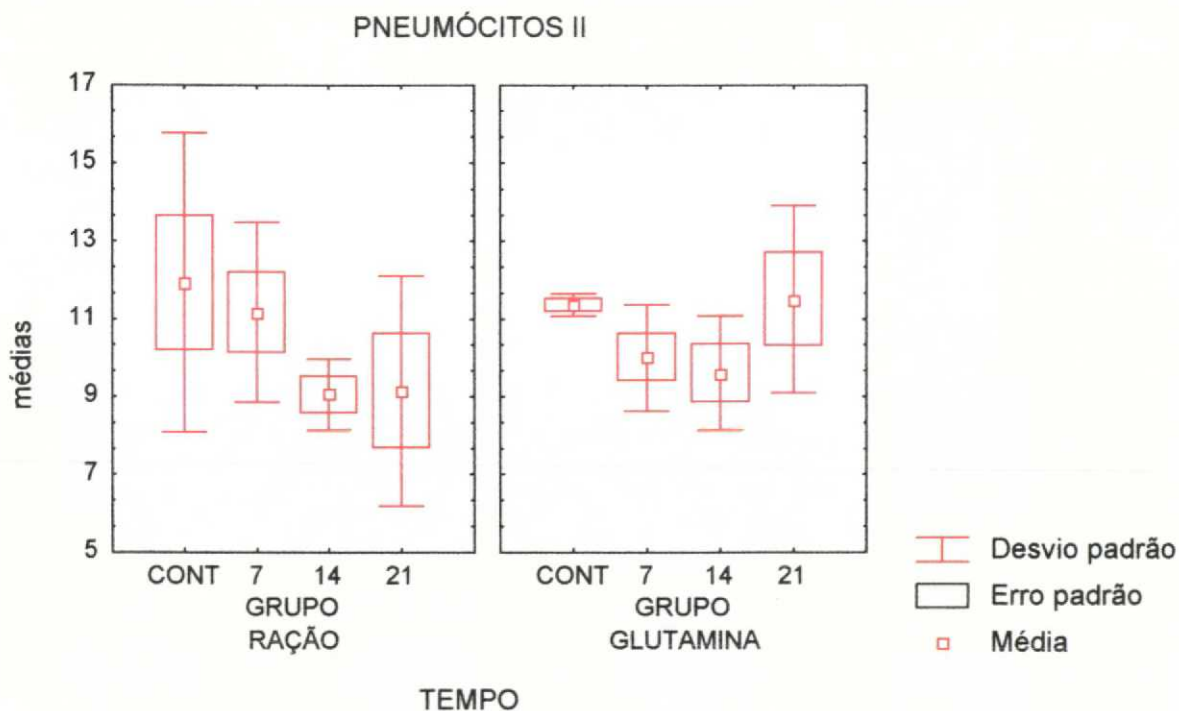


Figura 4: Comparação das médias do número de pneumócitos II , por 5 alvéolos, entre os grupos tratados com ração e com glutamina.

grupo da ração. A diferença entre esses subgrupos foi significativa. O mesmo ocorreu na comparação dos subgrupos com 7 dias de icterícia. Houve, portanto, interação significativa entre os dois grupos.

Os resultados estão representados nas tabela 4 e figura 5.

**Tabela 4: MÉDIAS DO NÚMERO DE MACRÓFAGOS PULMONARES, POR 5 ALVÉOLOS.**

SUBGRUPOS	GRUPOS	
	RAÇÃO	GLUTAMINA
Controle	10,24 (8,32)	5,07 (2,07)
7 Dias	11,24 (2,73) *	5,20 (3,11)
14 Dias	5,60 (2,32)	6,30 (0,75)
21 Dias	3,25 (0,37) ***	12,62 (2,05) τττ

∂∂

ANOVA Representação das médias das leituras por subgrupo (desvio padrão)

Análise aos pares: \*

Análise em relação aos controles do mesmo grupo: τ

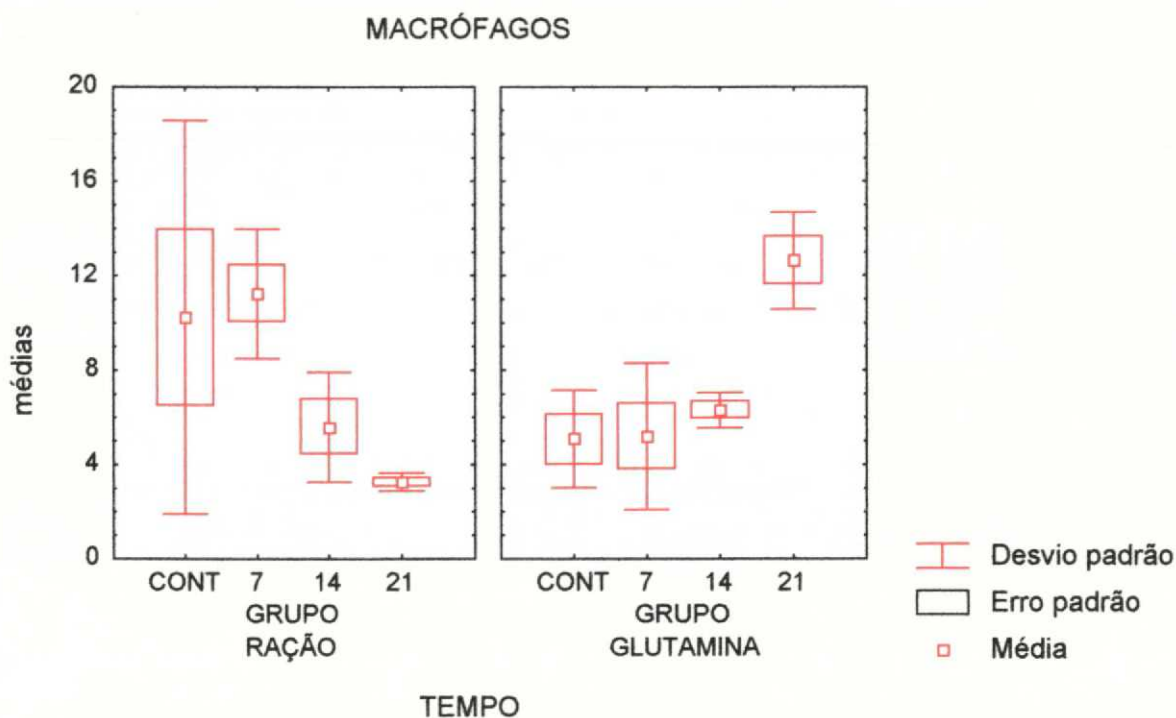
Análise conjunta → interação: ∂

\* τ ∂ = p ≤ 0,05    \*\* ττ ∂∂ = p ≤ 0,005    \*\*\* τττ ∂∂∂ = p ≤ 0,0001

### 3.1.4 Histologia do linfonodo mesentérico.

A histologia dos linfonodos dos controles, dos dois grupos, foi idêntica. Apresentaram foliculos primários, predominantes na região cortical, e poucos foliculos secundários, principalmente na região paracortical.

Nos subgrupos com icterícia, notou-se aumento progressivo no número de foliculos secundários, também predominantes na região paracortical. No centro germinativo, encontraram-se números crescentes de macrófagos, diretamente proporcionais ao tempo de evolução da colestase. Não houve diferença nítida entre os linfonodos pertencentes aos animais tratados com ração e com complementação de glutamina. Neste último grupo,



**Figura 5: Comparação das médias do número de macrófagos pulmonares, por 5 alvéolos, entre os grupos tratados com ração e com glutamina.**

contudo, notou-se tendência à maior abundância de foliculos secundários, de macrófagos nos foliculos e na região medular.

### 3.1.5 Histologia do rim

Não houve diferenças marcantes entre os aspectos teciduais dos controles e dos animais com colestase. Não se percebeu, também, influência da dieta na histologia óptica.

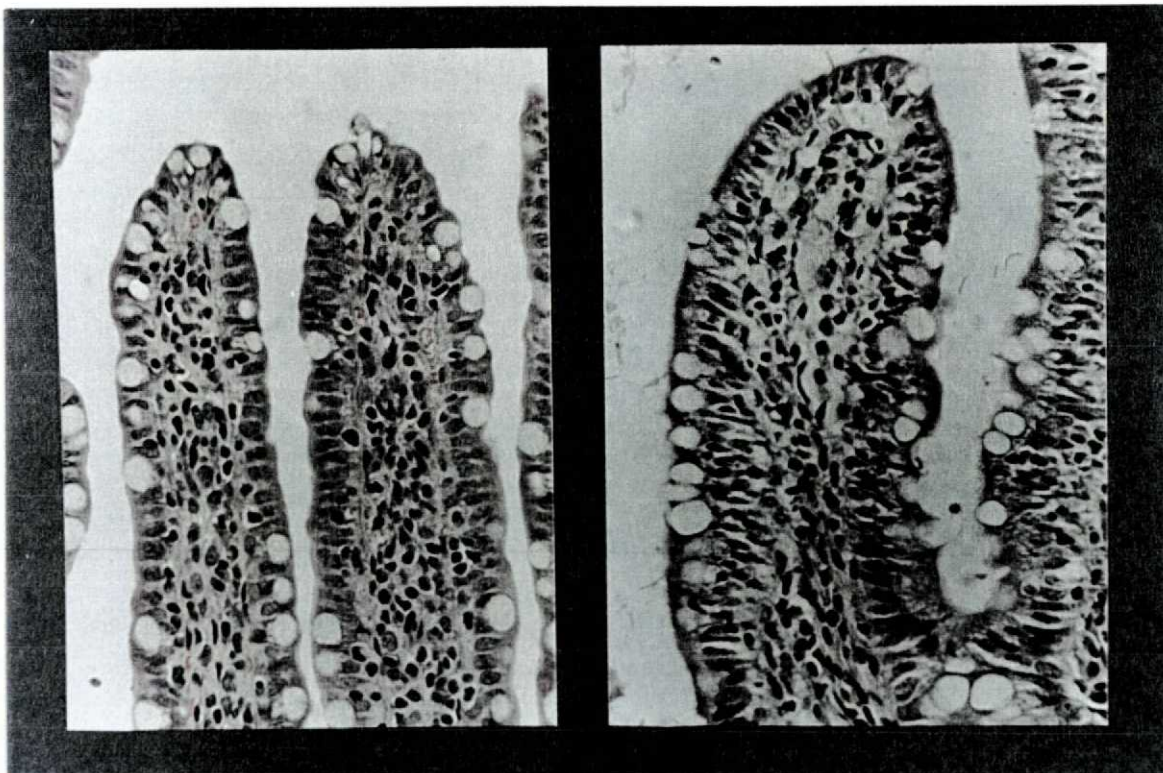
### 3.1.6 Histologia da mucosa do íleo terminal

Nos controles do grupo tratado com ração, encontrou-se a média de  $12,89 \pm 1,31$  vilosidades por campo de 100 aumentos. Não houve modificação no número de vilosidades por campo, aos 7 e aos 14 dias de colestase, sendo as médias de  $12,35 \pm 1,47$  e  $12,66 \pm 1,36$ , respectivamente. No final da terceira semana, houve diminuição, insignificante,

no número das vilosidades (  $10,87 \pm 1,81$  ). Nas duas últimas semanas de colestase, as vilosidades se tornaram mais espessas, suas extremidades mais achatadas e ligeiramente mais curtas do que aquelas dos controles.

No grupo com complementação de glutamina, os controles apresentaram maior número de vilosidades, em relação ao mesmo subgrupo tratado com ração (  $15,59 \pm 1,04$  ). As vilosidades eram mais estreitas, suas extremidades mais agudas, do que o subgrupo correspondente, do grupo ração, porém, seus comprimentos foram idênticos. O comportamento pouco se alterou nos ratos com colestase, da primeira (  $14,30 \pm 1,58$  ) à terceira semana (  $13,83 \pm 1,40$  ).

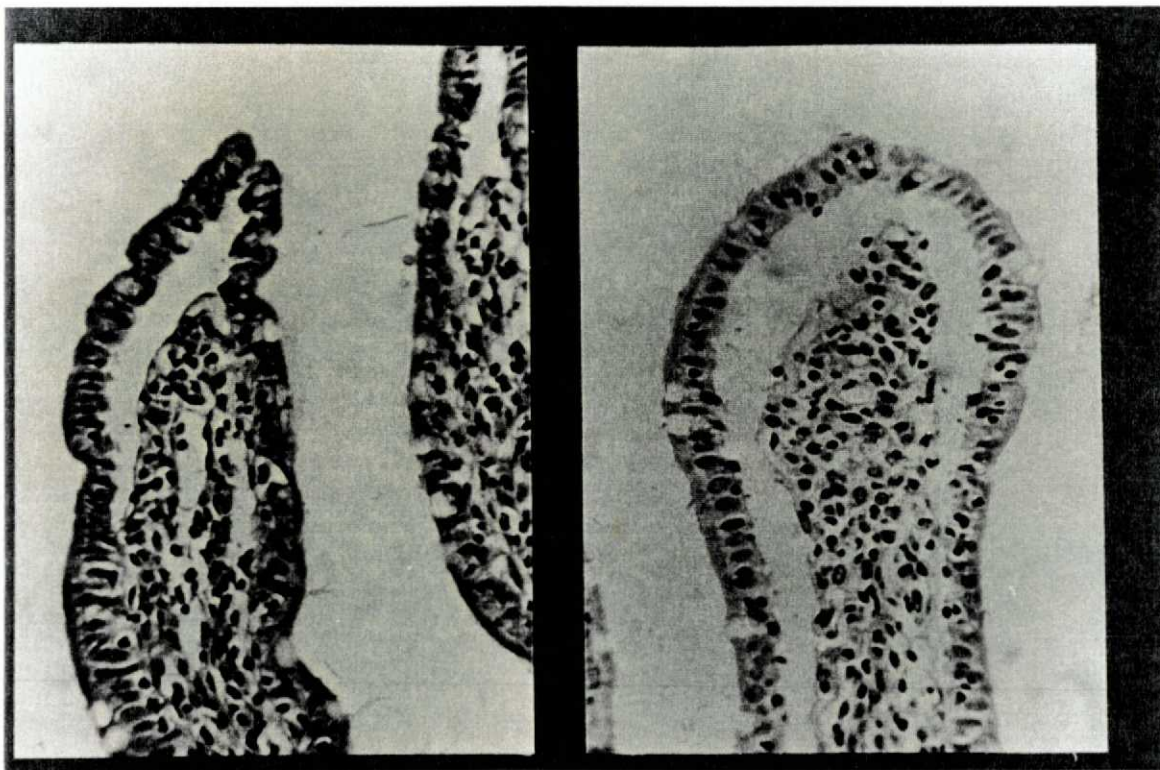
Houve diminuição progressiva da altura das vilosidades, ainda que discreta, à medida que o tempo de icterícia progrediu. A proporção entre a altura das vilosidades e a profundidade das criptas, contudo, manteve-se idêntica à dos controles, em todos os períodos da icterícia. Nesses aspectos não se percebeu influência das dietas.



**Figura 6.** À esquerda, exemplo de vilosidades dos controles; à direita, exemplo do escore 1.

*Gradação das alterações da mucosa das vilosidades do íleo.*

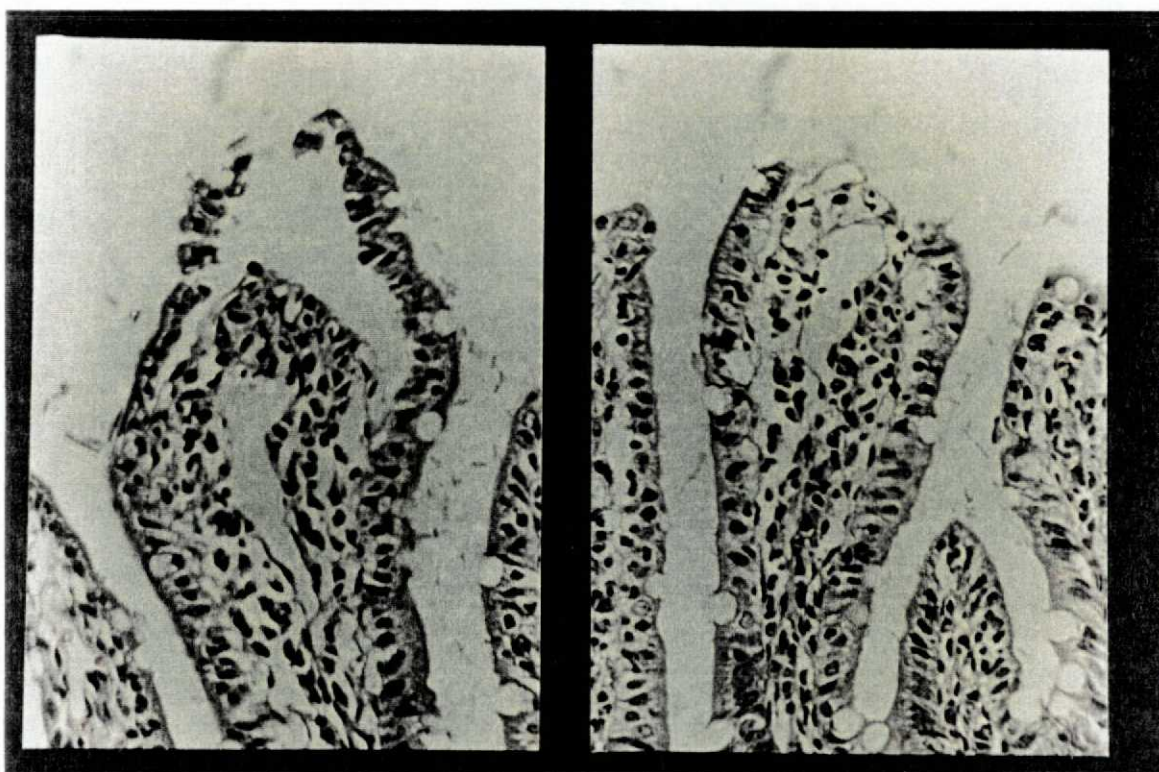
Na figura 6, estão representados os graus 0 e 1, respectivamente à esquerda e à direita. Nas vilosidades normais, notou-se o revestimento constituído por células colunares, de núcleos basais alongados e bordas estriadas nítidas. Entre elas, as células caliciformes, em número habitual, estenderam-se às extremidades das vilosidades. Houve diminuição dessas células, no vértice das vilosidades representantes do escore 1. Várias células colunares aí apresentaram núcleos menores do que os normais, com cromatina mais densa, entremeadas por células de aspecto normal. Surpreenderam-se pequenas áreas de extrusão dessas células alteradas, em algumas vilosidades.



**Figura 7.** À esquerda, exemplo das alterações caracterizadas como peso 2; à direita, representante do escore 3.

Representaram-se os escores 2 e 3, respectivamente, à esquerda e à direita, na figura 7. Notou-se, também, redução no número de células caliciformes nos vértices,

freqüente diminuição na altura das células colunares, com núcleos irregulares, e alguns linfócitos infiltrados, como na imagem à esquerda. Em outras vilosidades, tanto com alterações correspondentes ao escore 2 quanto ao 3, essas alterações da mucosa foram menos evidentes e se restringiram às áreas de extrusão no vértice. Nessas situações, contudo, a infiltração da mucosa por linfócitos se manteve.



**Figura 8.** As imagens, à esquerda e à direita, representam o grau 4, na gradação histológica.

Atribuiu-se o escore 4 às situações da figura 8. Nessas condições, além das alterações anteriores, encontrou-se ruptura da continuidade da mucosa. Consideraram-se como tal somente os casos em que houve a solução de continuidade associada às alterações indicativas de deterioração celular da mucosa.

Os animais tratados com glutamina, freqüentemente, apresentaram um tufo de mucosa, no vértice das vilosidades. Suas células, contudo, tinham geralmente aspecto semelhante ao normal.

A dilatação dos linfáticos da lâmina própria foi achado comum. Situou-se geralmente na base das vilosidades ou entre as criptas. Foi ocorrência infreqüente nos controles e mais comum ao avançar o tempo de icterícia.

Além disso, à medida que se intensificaram as alterações da mucosa, aumentaram as bactérias que se aderiram à sua superfície, ou nela penetraram.

A gradação das alterações da mucosa do íleo terminal dos ratos com icterícia, em relação aos controles, está resumida na tabela 5 e na figura 9. As alterações na mucosa ileal, dos animais com icterícia, foram significativamente maiores do que as do subgrupo controle, no grupo da ração. O mesmo ocorreu na primeira e na segunda semanas do grupo tratado com glutamina. Aos 21 dias, porém, as alterações foram idênticas às dos controles do mesmo grupo. Comparando-se os subgrupos entre si, aos pares, houve diferen-

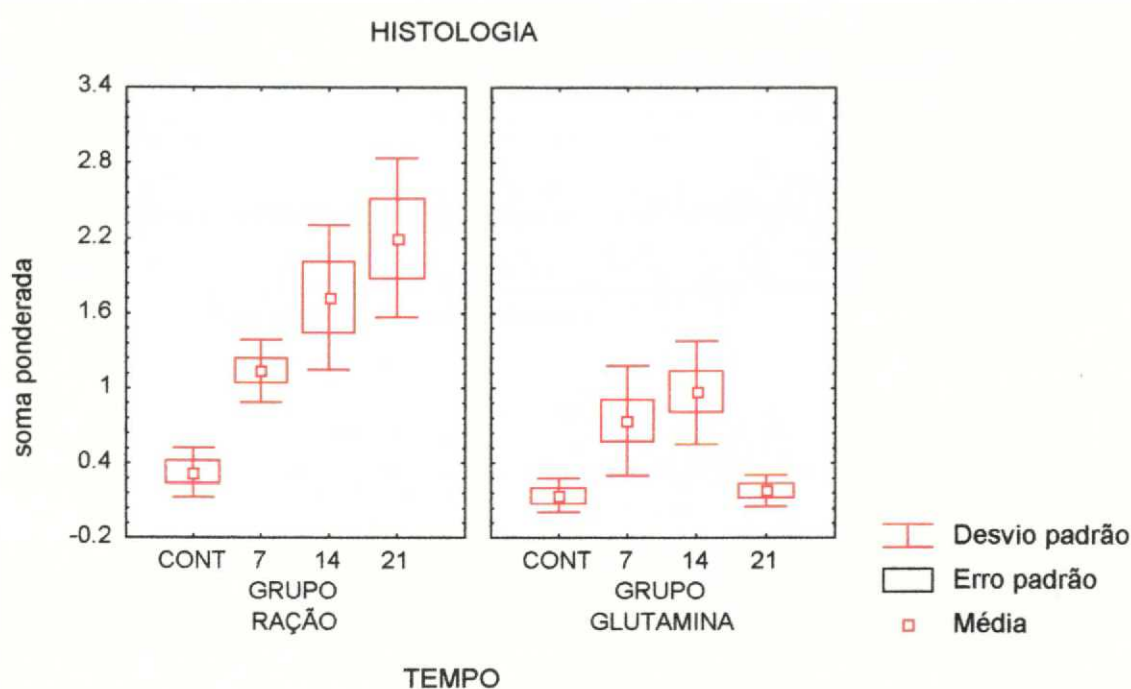
**Tabela 5: MÉDIAS DA PONTUAÇÃO DAS ALTERAÇÕES DA MUCOSA INTESTINAL**

SUBGRUPOS	GRUPOS	
	RAÇÃO	GLUTAMINA
Controle	0,33 (0,19)	0,14 (0,13)
7 Dias	1,14 (0,25) $\tau\tau\tau$	0,74 (0,43) $\tau$
14 Dias	1,73 (0,57) $\ast\tau\tau\tau$	0,96 (0,41) $\tau\tau\tau$
21 Dias	2,20 (0,63) $\ast\ast\ast\tau\tau\tau$	0,18 (0,13)
		$\partial\partial\partial$

ANOVA  
 Análise aos pares:  $\ast$   
 Análise em relação aos controles do mesmo grupo:  $\tau$   
 Análise conjunta  $\rightarrow$  interação:  $\partial$   
 $\ast\tau\partial = p \leq 0,05$        $\ast\ast\tau\tau\partial\partial = p \leq 0,005$        $\ast\ast\ast\tau\tau\tau\partial\partial\partial = p \leq 0,0001$

ças nas primeiras duas semanas de colestase, mas só houve diferenças notáveis no final da terceira semana. Assim, a influência da dieta foi significativa, diminuindo sobremaneira a

intensidade das alterações da mucosa no grupo da glutamina. Houve contudo interação significativa nos dois grupos.



**Figura 9: Comparação das médias da pontuação das alterações da mucosa intestinal entre os grupos tratados com ração e com glutamina.**

### 3.2 TESTES BIOQUÍMICOS DAS FUNÇÕES HEPÁTICAS E NUTRICIONAL.

As médias dos testes que demonstraram o grau de icterícia, a função dos hepatócitos, as conseqüências das dietas e o hematócrito, estão representadas na tabela 6.

Notou-se que, nos ratos tratados com glutamina, a albumina se conservou em níveis semelhantes aos encontrados nos animais do subgrupo controle. No grupo ração houve diminuição da albumina, à medida que evoluiu o tempo de colestase. Em ambos os grupos, houve aumento nas taxas de proteínas totais, quando comparadas àquelas dos controles.

Tabela 6: MÉDIAS DOS TESTES DE FUNÇÃO HEPÁTICA E HEMATÓCRITO

GRUPOS	BT	BD	BI	AST	ALT	FA	PT	ALB	GLOB	HT
<b>RAÇÃO</b>										
Controle	0,11 (0,01)	0,02 (0,01)	0,08 (0,01)	39,5 (19,3)	23,6 (4,7)	110 (6,9)	5,7 (0,3)	3,2 (0,4)	2,5 (0,4)	40,8 (1,9)
7 Dias	10,55 (1,89)	6,25 (0,69)	4,30 (1,27)	499 (170)	247 (120)	743 (240)	6,5 (0,5)	2,8 (0,2)	3,5 (0,1)	38,5 (1,4)
14 Dias	7,48 (1,01)	4,50 (1,44)	2,98 (0,52)	387 (97,2)	106 (11,1)	756 (56,4)	5,9 (0,3)	2,3 (0,3)	3,6 (0,3)	37,4 (2,1)
21 Dias	5,90 (0,48)	2,88 (0,54)	2,95 (0,40)	391 (181)	152 (54,2)	562 (272)	5,7 (0,3)	2,4 (0,4)	3,3 (0,3)	36,5 (2,6)
<b>GLUTAMINA</b>										
Controle	0,08 (0,01)	0,02 ( - )	0,07 (0,01)	44,6 (10,3)	23,6 (7,2)	98,4 (5,7)	5,9 (0,2)	3,2 (0,3)	2,7 (0,3)	40,6 (1,1)
7 Dias	9,93 (1,73)	5,16 (0,84)	4,76 (1,26)	413 (40,1)	120 (23)	763 (119)	6,5 (0,6)	3,1 (0,5)	3,4 (0,5)	39,7 (1,8)
14 Dias	8,21 (1,71)	5,08 (0,79)	3,13 (1,03)	396 (75,4)	122 (27)	678 (62)	6,6 (0,3)	3,2 (0,8)	3,4 (0,8)	40,5 (2,6)
21 Dias	6,66 (0,71)	4,03 (0,84)	2,65 (0,18)	259 (118)	90,6 (37)	653 (190)	6,2 (0,3)	3,0 (0,3)	3,2 (0,3)	39,5 (1,9)

Representação das médias (desvio padrão).

Abreviaturas: **BT**: Bilirrubina Total **BD**: Bilirrubina Direta **BI**: Bilirrubina Indireta **AST**: Aspartato Amino Transferase **ALT**: Alanina Amino Transferase  
**FA**: Fosfatase Alcalina **PT**: Proteína Total **ALB**: Albumina **GLOB**: Globulina **HT**: Hematócrito

### 3.3 ÍNDICE DE FAGOCITOSE.

As médias dos índices de fagocitose e os respectivos graus de dispersão estão representados na tabela 7 e na figura 10. Houve diferença significativa entre os controles de ambos os grupos, assim como entre os pares experimentais. No grupo tratado com glutamina, o comportamento dos subgrupos com colestase foi semelhante ao do controle, exceto aos 7 dias de evolução, idêntico ao controle do grupo ração. Portanto, houve nítida influência da dieta enriquecida por glutamina, traduzida por índices menores de fagocitose, ou seja, maior captação pelos órgãos e menor radiatividade residual no sangue.

**Tabela 7: ÍNDICE DE FAGOCITOSE**

SUBGRUPOS	GRUPOS	
	RAÇÃO	GLUTAMINA
Controle	- 0,25 (0,03) *	- 0,35 (0,02)
7 Dias	- 0,20 (0,03) ** τττ	- 0,29 (0,03) ττ
14 Dias	- 0,18 (0,01) *** τττ	- 0,35 (0,01)
21 Dias	- 0,13 (0,02) ** τττ	- 0,34 (0,02)

δδδ

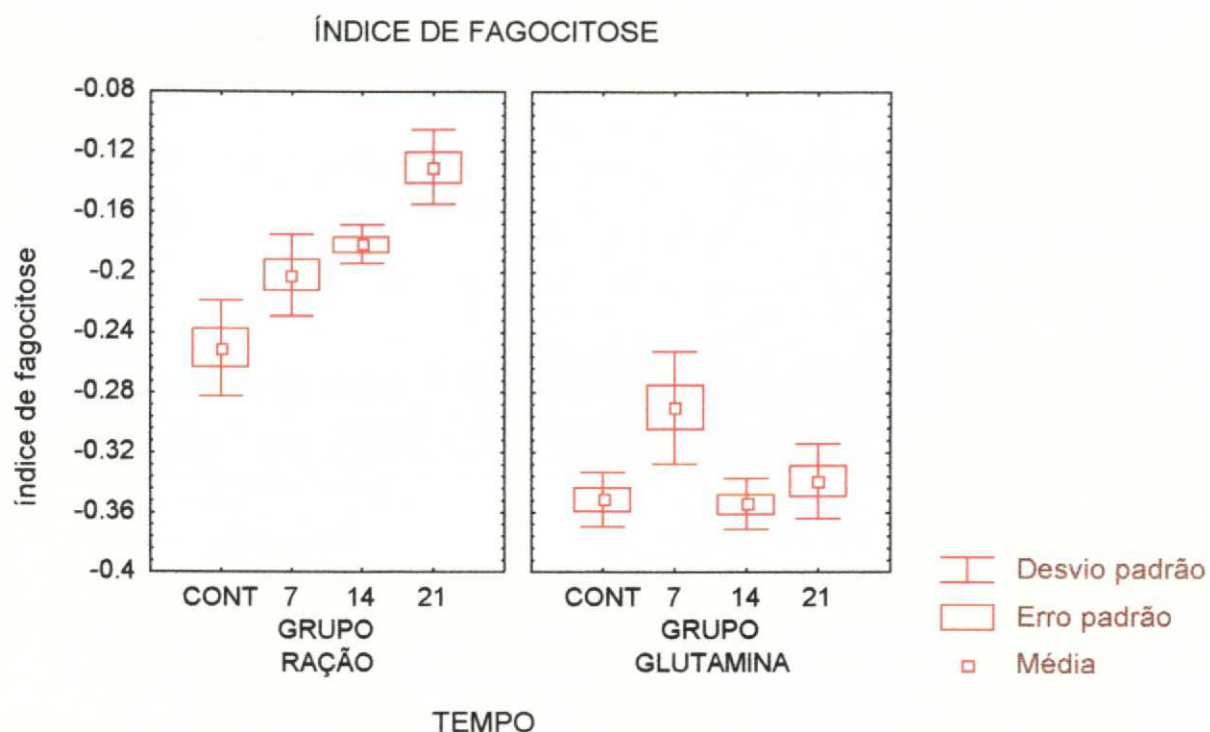
ANOVA Representação das médias dos índices de fagocitose ( desvio padrão)

Análise aos pares: \*

Análise em relação aos controles do mesmo grupo: τ

Análise conjunta → interação: δ

\* τ δ =  $p \leq 0,05$     \*\* ττ δδ =  $p \leq 0,005$     \*\*\* τττ δδδ =  $\leq 0,0001$



**Figura 10:** Comparação dos índices de fagocitose entre os grupos tratados com ração e com glutamina.

### 3.4 CAPTAÇÃO GERAL DO CONJUNTO DE ÓRGÃOS.

Representou-se a capacidade total de captação do inóculo, pelos órgãos estudados, na tabela 8 e na figura 11. Houve nítida influência da glutamina, traduzida pela maior captação dos respectivos subgrupos. Na análise procedida aos pares, notou-se diferença significativa em todos os períodos de obstrução biliar. Ressaltou-se, ainda, a uniformidade dos percentuais de captação, ao longo do tempo de colestase, quando os ratos receberam glutamina como complementação dietética.

Tabela 8: CAPTAÇÃO GERAL DO CONJUNTO DE ÓRGÃOS.

SUBGRUPOS	GRUPOS	
	RAÇÃO	GLUTAMINA
Controle	0,94 (0,02)*	0,97 (0,01)
7 Dias	0,91 (0,03)*	0,95 (0,01) $\tau$
14 Dias	0,89 (0,02)*** $\tau$	0,97 (0,01)
21 Dias	0,80 (0,04)** $\tau\tau$	0,98 (0,01)

$\partial\partial\partial$

ANOVA Representação das médias da captação (desvio padrão)

Análise aos pares: \*

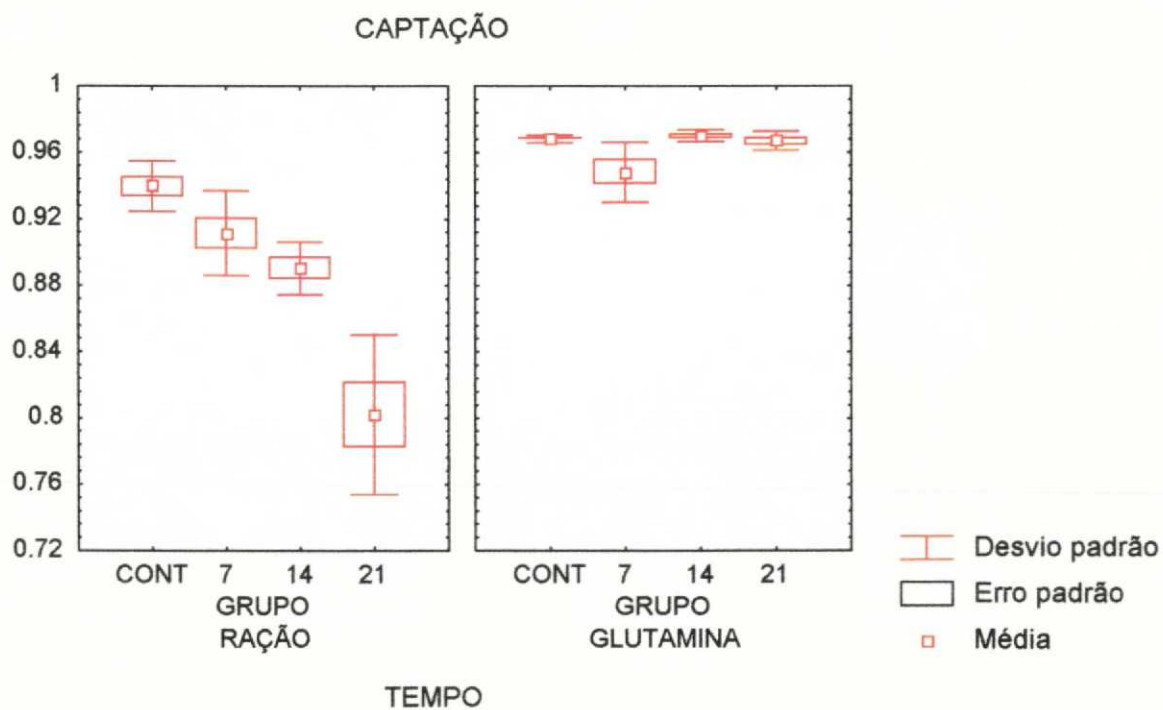
Análise em relação aos controles do mesmo grupo:  $\tau$ Análise conjunta  $\rightarrow$  interação:  $\partial$ \*  $\tau \partial = p \leq 0,05$  \*\*  $\tau\tau \partial\partial = p \leq 0,005$  \*\*\*  $\tau\tau\tau \partial\partial\partial = p \leq 0,0001$ 

Figura 11 : Comparação entre a captação geral do conjunto de órgãos dos grupos tratados com ração e daqueles tratados com glutamina.

### 3.5 PERCENTUAL DE CAPTAÇÃO PELOS ÓRGÃOS.

Resumiram-se, na tabela 9, os percentuais de captação de cada órgão e as suas dispersões respectivas. O baço não sofreu influência da dieta. Os rins sofreram alguma influência nos controles e na primeira semana. Os linfonodos dos animais tratados com glutamina capturaram menos bactérias tanto no subgrupo tomado como controle quanto naqueles com icterícia. O papel da dieta enriquecida por glutamina foi notável na função do sistema retículo endotelial do fígado e do pulmão, principalmente, na segunda e na terceira semanas de estase biliar.

Esses aspectos podem ser mais bem compreendidos através das figuras 12, 13, 14, 15 e 16.

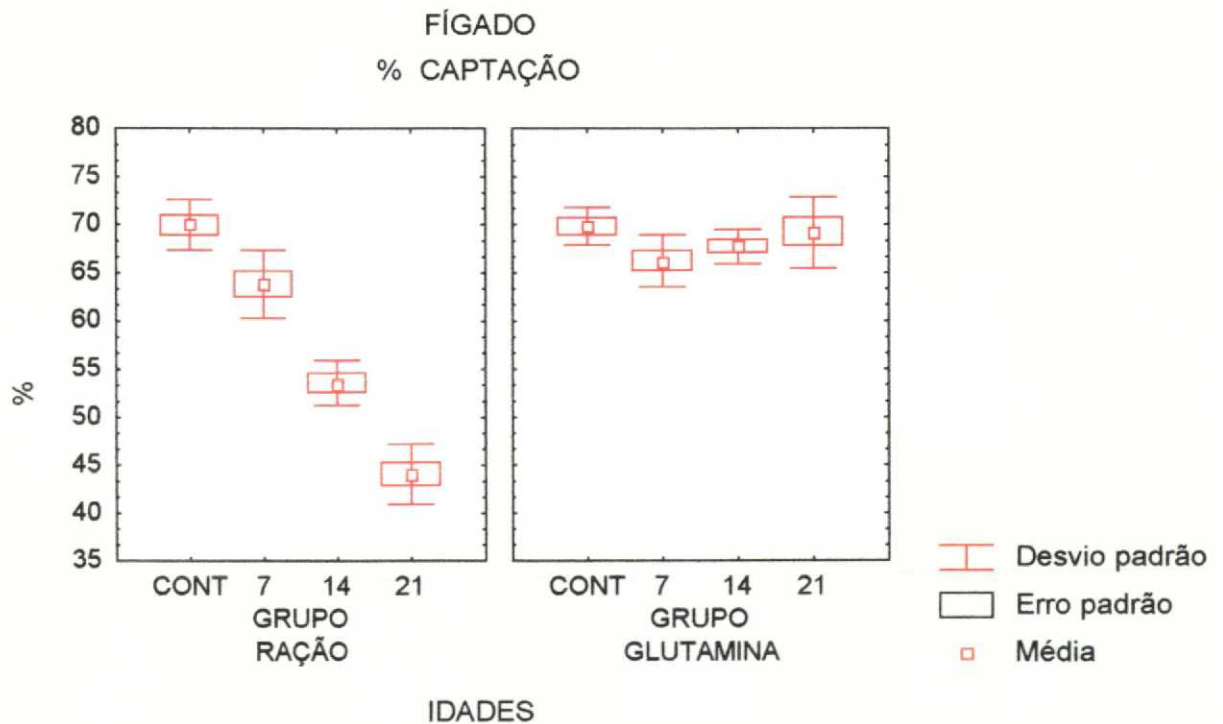


Figura 12: Comparação entre o percentual de captação pelo fígado dos grupos tratados com ração e daqueles tratados com glutamina.



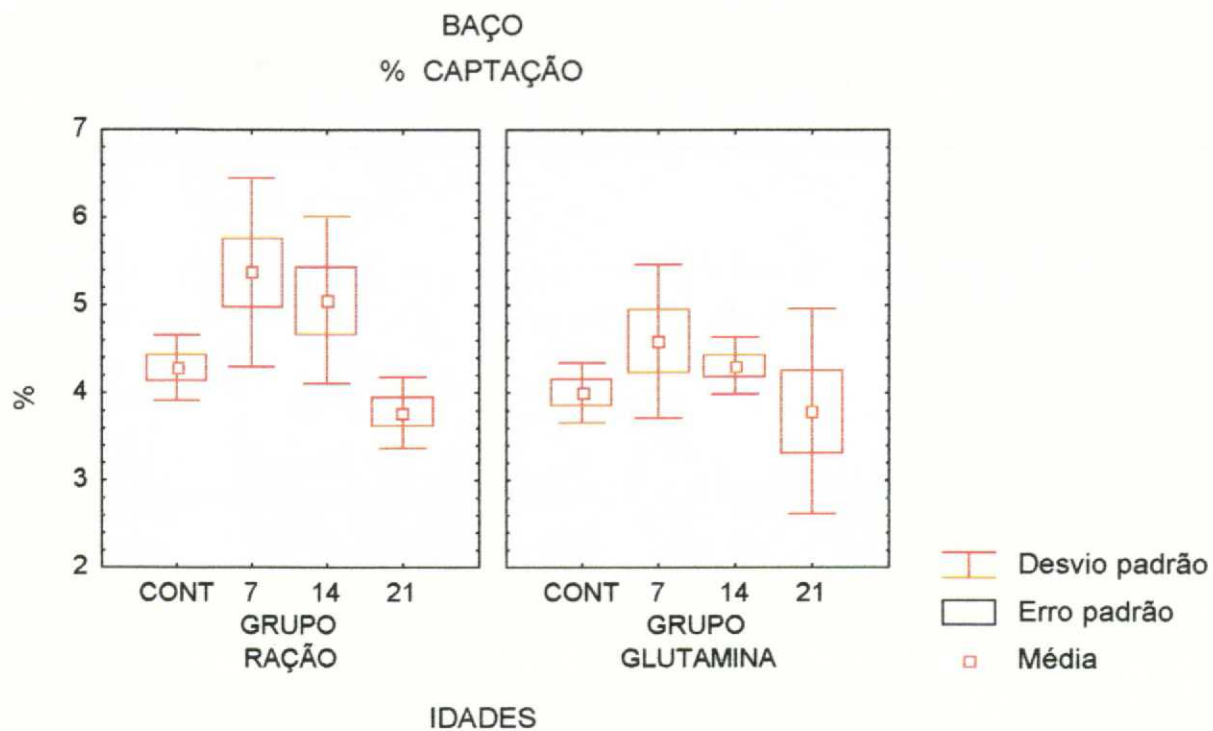


Figura 13: Comparação entre o percentual de captação pelo baço no grupo tratado com ração e no tratado com glutamina.

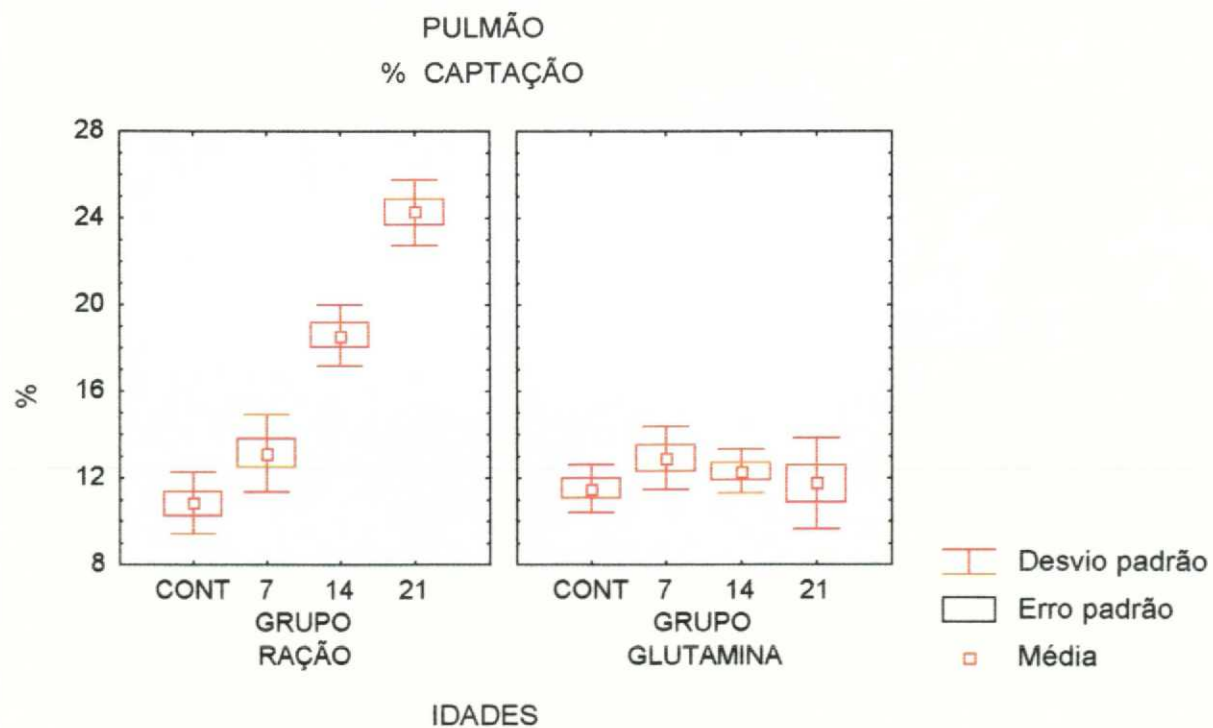


Figura 14: Comparação entre o percentual de captação pelo pulmão nos grupos tratados com ração e com glutamina.

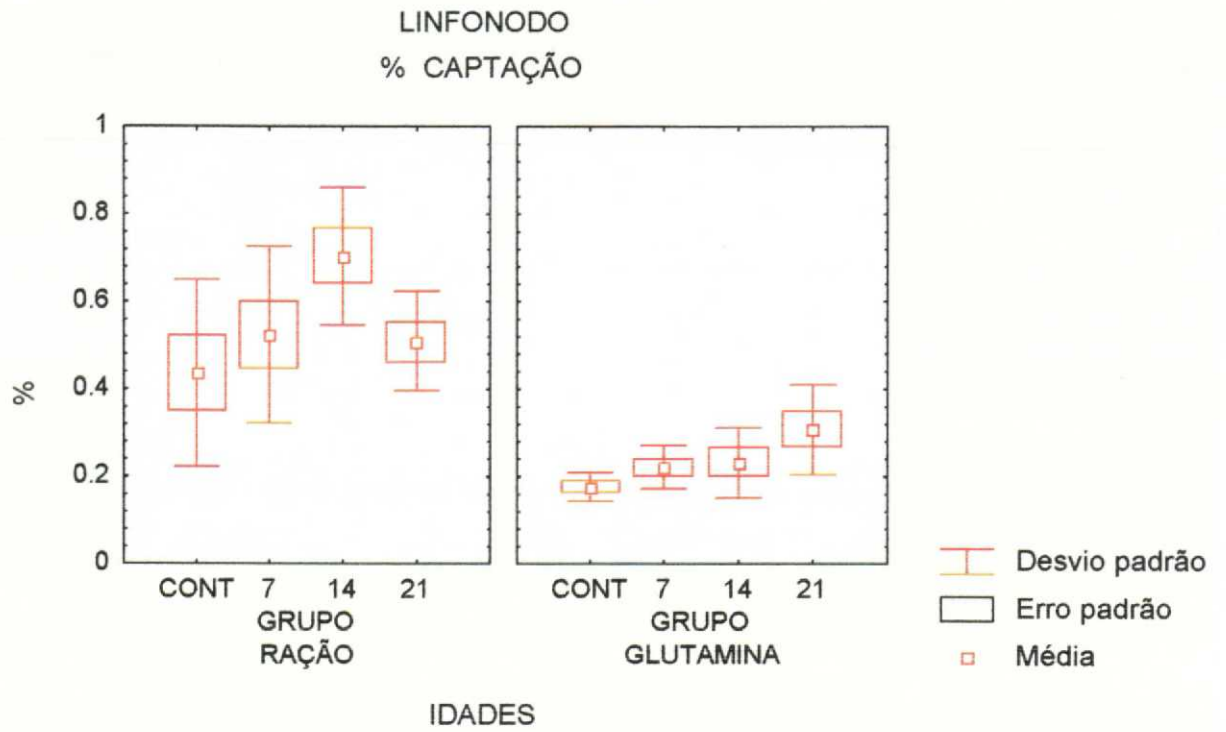


Figura 15: Comparação entre o percentual de captação pelo linfonodo do grupo tratado com ração e naquele tratado com glutamina.

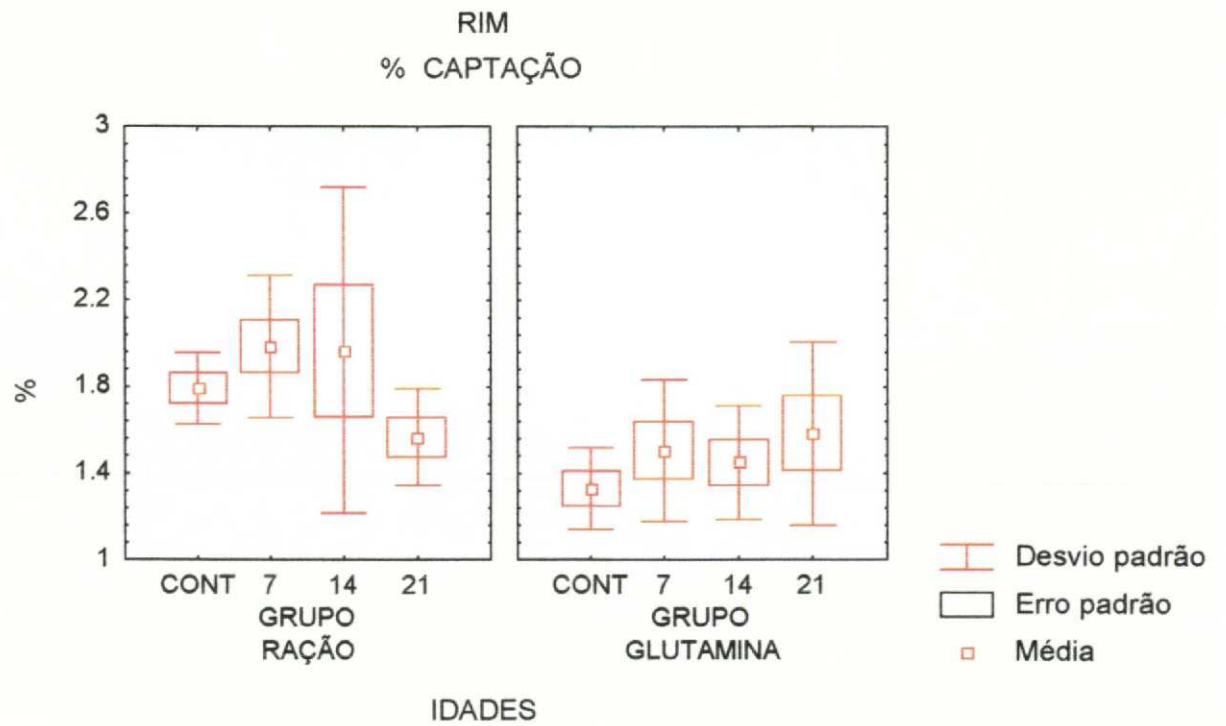


Figura 16: Comparação entre o percentual de captação pelo rim dos animais tratados com ração e com glutamina.

Tabela 10 : CAPTAÇÃO POR GRAMA DE TECIDO.

GRUPOS	FÍGADO	BAÇO	PULMÃO	LINFONODO	RIM
<b>RAÇÃO</b>					
Controle	17609 (3067) **	28548 (5447)	58823 (6204) *	2206 (1038)	5709 (1769)
7 Dias	14624 (3248)	23293 (3292) **	61384 (7474)	2073 (1122)	5191 ( 769) **
14 Dias	10681 ( 797) ** ttt	16264 (3244) ttt	65237 (5197) τ	4567 (1407) * ttt	4815 (1959)
21 Dias	7382 (1183) *** ttt	8736 (1715) ttt	61940 (6968) *	8136 (1278) ** ttt	4341 ( 750)
<b>GLUTAMINA</b>					
Controle	24533 (1329)	28998 (2130)	52315 (3741)	1157 ( 139)	4597 ( 592)
7 Dias	16335 (2282) ttt	17423 (4903) ttt	64542 (6820) ttt	1132 ( 166)	3563 ( 598)
14 Dias	14775 (1770) ttt	16216 (1599) ttt	68352 (6338) ttt	1066 ( 156)	3597 ( 934)
21 Dias	13035 (1763) ttt	10011 (3011) ttt	45001 (4808)	2060 ( 554) ttt	4844 ( 823)
	ôôô	ê	ê	ôôô	ê

ANOVA Representação das médias do percentual de distribuição (desvio padrão)

Análise aos pares: \* Análise em relação aos controles do mesmo grupo: τ Análise conjunta: ê

\* τ ê = p ≤ 0,05 \*\* τ ê ê = p ≤ 0,005 \*\*\* τ τ ê ê ê = p ≤ 0,0001

### 3.6 CAPTAÇÃO POR GRAMA DE TECIDO.

O apanhado geral do comportamento dos vários órgãos, por unidade de peso dos tecidos correspondentes, foi transcrito na tabela 10. A atividade das células monomorfonucleares da fagocitose foi mais intensa no pulmão, sendo seguido, em valores decrescentes, pelo baço e pelo fígado.

#### 3.6.1 Fígado

A função dessas células fagocitárias foi significativamente maior nos ratos que sofreram operação simulada, pertencentes ao grupo da glutamina. Comportamento semelhante ocorreu, aos 14 e 21 dias de icterícia, no mesmo grupo. Houve, portanto, nítida diferença entre esses subgrupos e os correspondentes do grupo da ração, notando-se a influência favorável da glutamina. Ainda que isso tenha ocorrido em ambos os grupos, houve diminuição progressiva na eficácia das células de Kupffer, na captação das bactérias marcadas. Essas ocorrências se representaram na figura 17.

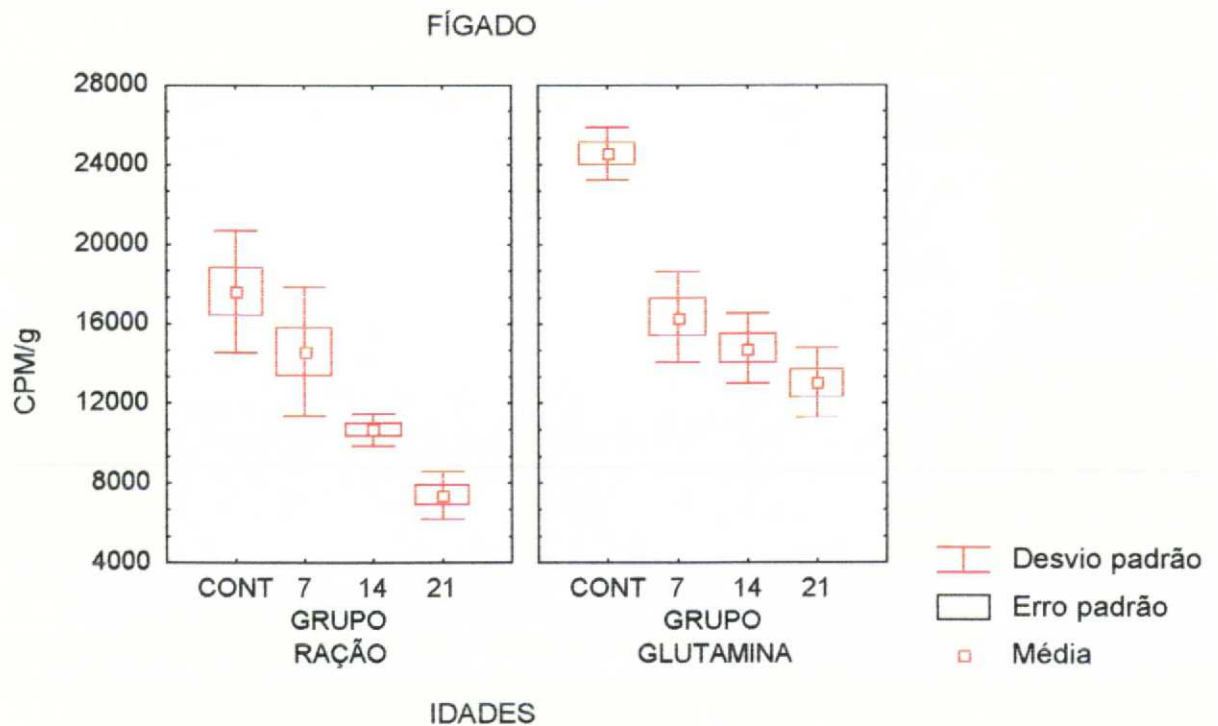
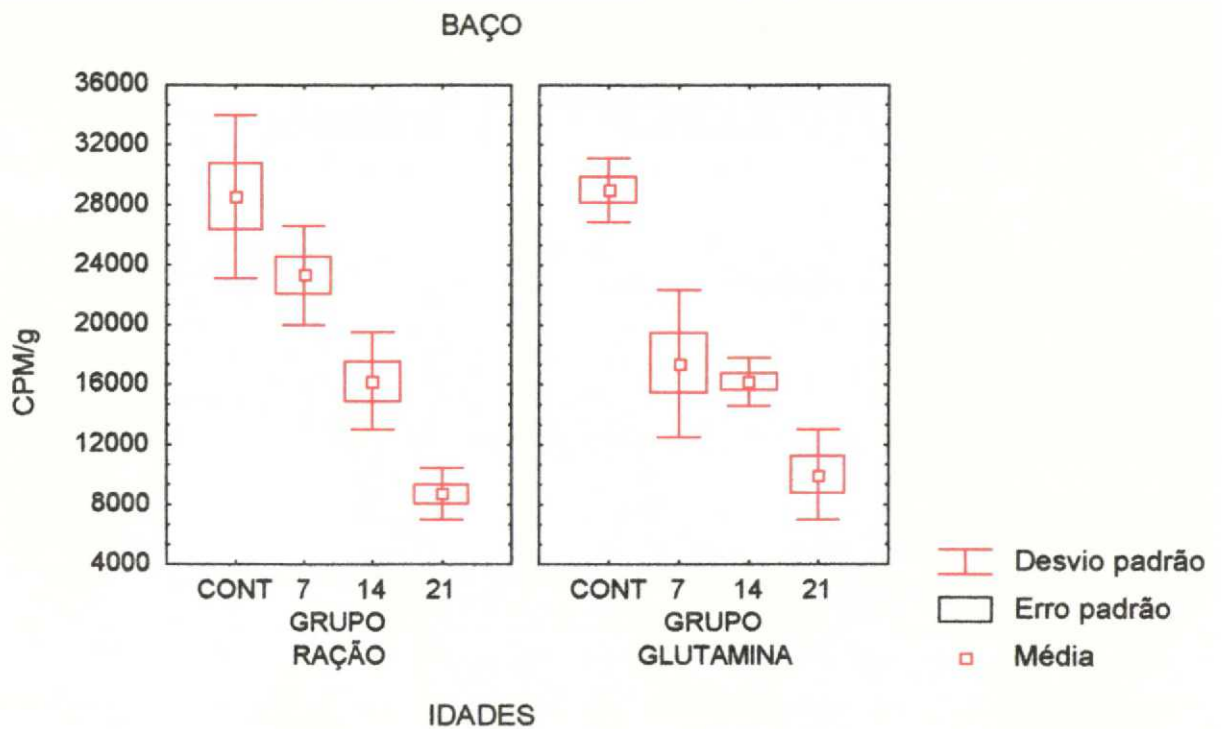


Figura 17: Comparação entre a captações por grama de tecido hepático nos animais tratados com ração e com glutamina.

### 3.6.2 Baço

Foi notável, também, o declínio funcional dos fagócitos esplênicos, ao longo da evolução da colestase. No sétimo dia, o poder de captação foi significativamente maior, no grupo tratado com ração. Nos outros períodos, não houve diferença entre os pares dos subgrupos correspondentes. Assim mesmo, pôde-se demonstrar que, no conjunto, a glutamina influenciou a função dos fagócitos, favoravelmente. Realizou-se a representação gráfica na figura 18.

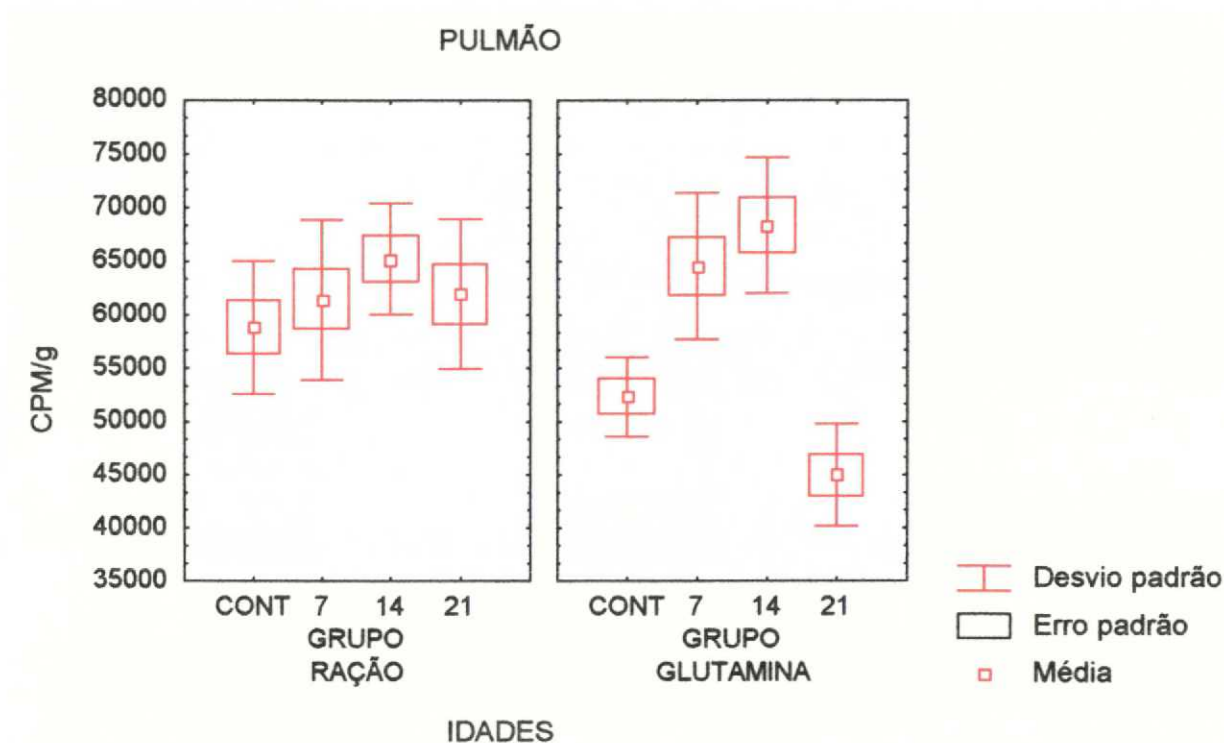


**Figura 18:** Comparação entre a captação por unidade de peso do baço dos ratos tratados com ração e com glutamina.

### 3.6.3 Pulmão

A apreensão de bactérias marcadas foi menor nos subgrupos controle e 21 dias, tratados com glutamina, do que nos tratados com ração. Aos 7 e 14 dias de evolução da colestase, o comportamento foi idêntico nos dois grupos. Houve aumento progressivo na captação, seguindo-se de queda, no final da terceira semana, mais acentuada no grupo da

glutamina. A significância da interação sofrida pelos grupos esteve entre os números limítrofes do  $p$  estabelecido. Expuseram-se esses resultados nos gráficos da figura 19.



**Figura 19:** Comparação entre a captura por grama de pulmão dos animais tratados com dois tipos de dieta.

#### 3.6.4 Linfonodo mesentérico

A captura das bactérias marcadas com radioisótopo foi significativamente maior aos 14 e 21 dias, em relação aos controles do mesmo grupo da ração. Nos animais tratados com glutamina, o comportamento dos subgrupos foi uniforme, semelhante ao dos controles. Na comparação com os subgrupos correspondentes, aos pares, houve nítida diferença aos 14 e aos 21 dias, sendo a captura menor verificada no grupo da glutamina. A interação foi marcante. Os gráficos foram colocados na figura 20.

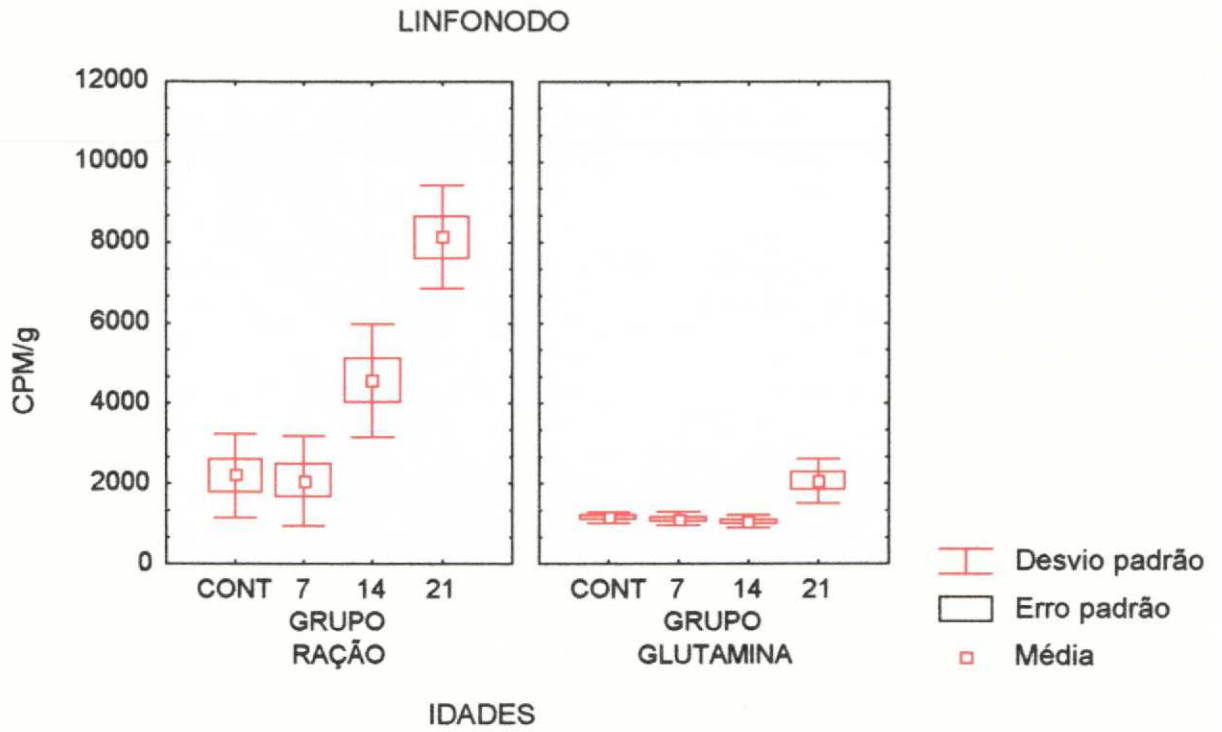


Figura 20: Comparação entre a captação por grama de linfonodo ocorrida no grupo da ração e no da glutamina.

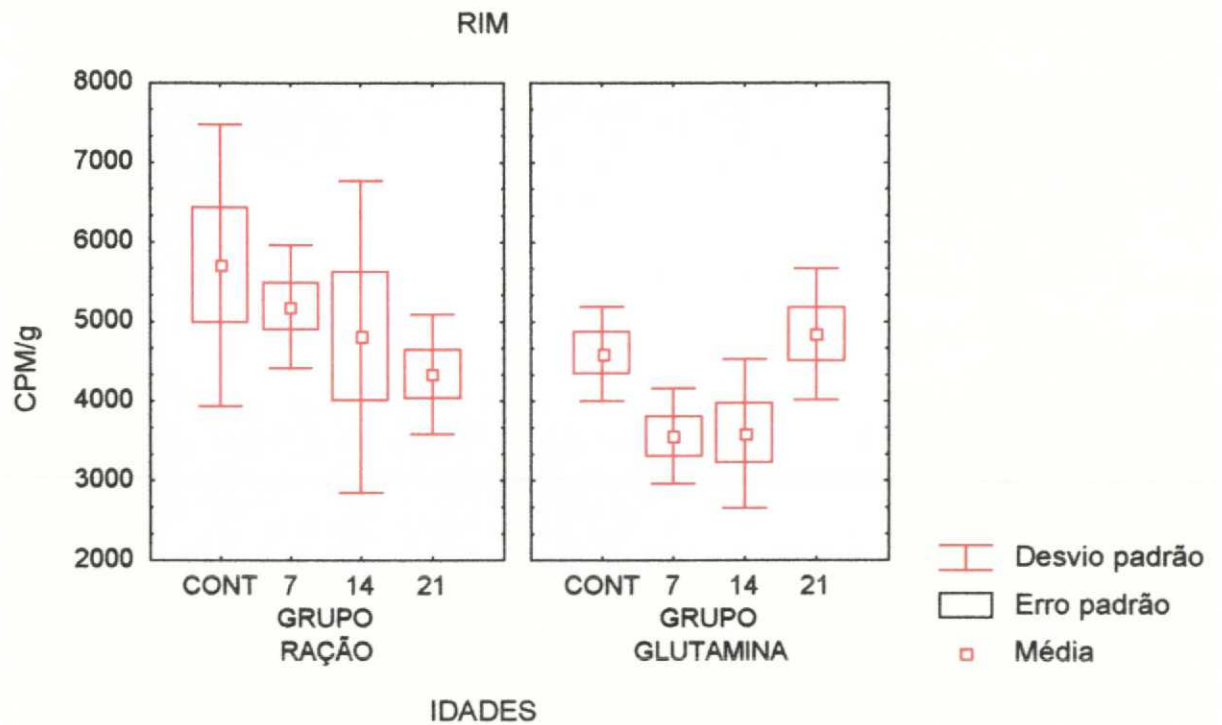


Figura 21: Comparação entre a captação por grama de tecido renal dos animais tratados com ração e com glutamina.

### 3.6.5 Rim

Foi parecido o comportamento nos dois grupos. Representaram-se os dados na figura 21.

#### 4. COMENTÁRIOS

No modelo de indução à icterícia que se usou, os detalhes táticos, como a posição constante da dupla ligadura<sup>146, 230</sup> e o posicionamento retroduodenal da porção distal do ducto comum<sup>119</sup>, asseguraram graus de icterícia aceitáveis. A bilirrubina total, que na primeira semana atingiu níveis acima de 9 mg/dl, diminuiu progressivamente até 6 mg/dl, no final da terceira semana de obstrução. Alguns autores encontraram comportamento semelhante<sup>85, 105, 119, 164</sup>, outros observaram valores menores<sup>10, 190, 241</sup>, enquanto, pesquisadores há que relataram concentrações maiores<sup>4, 178, 209, 230</sup>.

Alguns pesquisadores postularam que a queda nos níveis de bilirrubina total decorreria do restabelecimento espontâneo do fluxo biliar<sup>119, 230, 282</sup>. Com a técnica que se usou neste estudo, no entanto, a maioria dos ductos teve as ligaduras de suas extremidades livres à mostra, sem aderências com alças ou com o duodeno. Como, além disso, a porção distal do ducto comum permaneceu na sua posição retroduodenal, a hipótese do restabelecimento do fluxo biliar ficou pouco consistente.

Por outro lado, pela microscopia óptica dos cortes de fígado, observou-se exuberante “proliferação” dos dúctulos dos espaços portais. Assumiu-se que esse aspecto foi a tradução planiforme de um grande e tortuoso alongamento hiperplásico desses dúctulos<sup>253</sup>, e se realizaram os cálculos propostos por Slott e colaboradores<sup>253</sup>. A presunção foi de que houve acréscimo de 9,5 a 12 vezes o volume biliar intra-hepático dos controles, já no final da primeira semana de colestase. Na projeção para a terceira semana, o volume aumentaria 40 a 50 vezes em relação aos mesmos parâmetros anteriores. Nesta mesma época, a porção ductal extra-hepática adquiriu forma cilindróide e atingiu dimensões de tal ordem que poderia ter acumulado 80 a 100 vezes mais bile do que os animais tomados como controle<sup>275</sup>. Como consequência, foi possível imaginar que em virtude da pouca elasticidade dos ductos e dúctulos intra-hepáticos, decorrente da própria estrutura do fígado, a porção extra-hepática da via biliar funcionou como segmento de capacitância, pois as suas paredes se conservaram finas e, aparentemente, complacentes. Dessa forma, a dilatação cística do colédoco, também observada por outros pesquisadores<sup>75, 133, 271</sup>, permitiria a estabilização ou até ligeira diminuição da pressão intraductal, no final do período de obser-

vação<sup>33, 253</sup>, por ter tido a relação volume-pressão um comportamento não linear<sup>268</sup>. Por causa desse comportamento<sup>52, 268</sup>, o fluxo biliar nulo, das elevadas pressões<sup>87, 248, 253</sup>, poder-se-ia tornar positivo nas variações pressóricas mínimas, favorecendo uma queda surpreendente na bilirrubina plasmática<sup>33, 275</sup>.

Além disso, sabe-se que, na icterícia de longa duração, ocorrem modificações que se assemelham às da cirrose<sup>107</sup>, em que as alterações circulatórias<sup>95, 158, 180</sup>, as do citoesqueleto e na função dos hepatócitos<sup>87, 131</sup>, podem diminuir a conjugação da bilirrubina substancialmente<sup>33</sup>. E mais, ratos, ao contrário do homem, não têm o fígado como único órgão de esterificação da bilirrubina e de remoção dos pigmentos do plasma<sup>33</sup>. O intestino desses roedores permite a passagem de bilirrubina, provavelmente não conjugada, do plasma para a sua luz<sup>248</sup>, e o rim elimina parte da bilirrubina conjugada<sup>107, 248</sup>. Por isso, Pellegrini e colaboradores<sup>203</sup> são de opinião que a fosfatase alcalina seria indicador mais sensível de obstrução do que a bilirrubina. Os ratos, ora estudados, apresentaram níveis mais constantes de fosfatase alcalina do que de bilirrubina, durante as 3 semanas de observação. Não houve, portanto, correlação entre os níveis de fosfatase alcalina e bilirrubina direta. Além disso, a histologia renal não evidenciou alterações compatíveis com a eventual retenção de pigmentos biliares.

Confirmou-se a posição assumida das boas condições biliares, notando-se que as alterações vistas à microscopia óptica foram comparáveis àquelas dos autores que obtiveram os maiores níveis de bilirrubinemia<sup>4, 164, 230, 241, 278</sup>. Além disso, somente alguns ratos apresentaram discreta hiperplasia da mucosa dos dutos hepáticos, indicando que não houve infecção<sup>185</sup>.

#### 4.1 ASPECTOS NUTRICIONAIS

Verificaram-se, previamente, neste e em outros laboratórios<sup>75, 133, 219</sup>, que ratos machos do tipo Wistar, jovens, que se trataram com ração balanceada, aumentaram progressivamente de peso. Nos primeiros sete dias, o ganho ponderal foi grande ( 25% em relação ao peso inicial ), diminuindo progressivamente para cerca de 8% , na 5ª semana. Neste laboratório, contudo, no período de adaptação de 6 dias, o ganho ponderal foi signi-

ficativamente maior no grupo da complementação com glutamina do que no grupo tratado só com ração<sup>219</sup>.

Nos dois grupos, após a operação simulada, houve estabilização ou discreto declínio ponderal. Três a quatro dias depois da operação, os animais readquiriram os respectivos padrões das curvas de crescimento do pré-operatório. Na obstrução biliar, o comportamento ponderal inicial foi semelhante ao anterior. Mas, ao contrário dos controles, não houve restituição das curvas de crescimento do pré-operatório. Os dois grupos mantiveram os pesos, do dia da obstrução biliar, até o final do período de observação. Esse comportamento, na colestase, foi semelhante ao encontrado por outros autores<sup>75, 106, 117, 133, 219, 230</sup>, e não sofreu influência da dieta.

A estabilidade do peso na colestase não dependeu da diminuição na ingestão de alimentos. Em estudo preliminar de 54 ratos, verificou-se que os controles ingeriram a mesma quantidade de ração que os animais com 14 e 21 dias de icterícia obstrutiva. As quantidades foram, respectivamente,  $25,17 \pm 3,763$  g,  $24,89 \pm 2,936$  g e  $24,22 \pm 3,097$  g/rato/dia. As médias da ingestão de ração, por 53 animais que receberam complementação de glutamina, foram semelhantes às do grupo anterior:  $24,12 \pm 3,036$  g,  $25,03 \pm 3,258$  g e  $24,93 \pm 3,728$  g/rato/dia. Além dessa quantidade de ração, ingeriram cerca de 50 ml/rato/dia da solução com glutamina. O total por rato perfêz 7,12 g de proteínas por dia, contra 5,5 g do grupo alimentado só com ração. O valor calórico aproximado foi 108,58 e 74,4 kcal/dia, respectivamente. Apesar da diferença na ingestão calórico-protéica entre os dois grupos com colestase, o comportamento ponderal foi idêntico com ambos os regimes. Para a confirmação da hipótese de que a variação do peso não dependeu exclusivamente da quantidade de nutrientes, Gouma e colaboradores<sup>106</sup> administraram, aos indenes, a mesma quantidade de ração ingerida pelos ratos com icterícia. Na primeira semana, a diminuição de peso foi desprezível, nos controles, enquanto foi acentuada, nos icterícos. Nesses, houve recuperação do peso inicial em três semanas, e, aumento, naqueles. O grupo de Gouma<sup>105</sup> constatou, também, que a drenagem biliar externa ou interna, pelo mesmo período, não interferiu no comportamento ponderal. Diante dessas evidências, imagina-se que existam fatores outros a regerem a incorporação dos nutrientes à massa corporal, ou ocorre catabolismo acentuado e persistente, que dura, pelo menos, 35 dias<sup>22, 88, 106, 129</sup>.

Neste laboratório, contudo, houve discreta diminuição na ingestão da ração e da dieta enriquecida, nos primeiros 7 dias de oclusão biliar. Essa constatação prévia coincidiu com o atual aumento das proteínas totais, em ambos os grupos. Nos dias subsequentes, os níveis das proteínas permaneceram elevados, nos animais tratados com glutamina, e diminuíram nos outros, proporcionalmente ao tempo de icterícia. No último grupo, à semelhança do que encontraram outros autores<sup>85, 106, 146, 164</sup>, o aumento inicial nos níveis de proteína total dependeu principalmente do aumento das globulinas, enquanto a diminuição posterior sofreu a influência da redução nos valores da albumina. No grupo da glutamina, do presente estudo, porém, a albumina se conservou em níveis próximos aos do controle, influenciando a persistência das taxas de proteína total próximas às dos controles. Embora a ingestão calórico-protéica tenha sido maior nesse grupo, o comportamento da albumina demonstrou maior capacidade de utilização dos nutrientes e maior eficiência metabólica dos hepatócitos. Não houve, portanto, paralelo entre as alterações das aminotransferases e o comportamento funcional dos hepatócitos, nesse nível.

Para simples reflexão, embora necessite de confirmação com método mais acurado, complementou-se o estudo, pela mensuração das áreas ocupadas pelas estruturas portais e pelos hepatócitos, em cada campo microscópico, em relação aos períodos de evolução da icterícia. Aos 21 dias, nos dois grupos, houve diminuição de 20% nas áreas médias dos hepatócitos, em relação às áreas dos controles. Em contraposição, as áreas portais quase quadruplicaram. Ainda assim, o aumento percentual no peso do fígado foi desproporcional ao que seria de se esperar do comportamento portal. Como nessas áreas houve escassa fibrose e predominância de ductulos, presumiu-se que a sua densidade se assemelhou à da água. Portanto, a força que aí agiu provavelmente foi idêntica àquela que atuou sobre a unidade de volume dos hepatócitos. Diante disso, para a análise desejada, fundamentou-se parcialmente na concepção clássica dos lóbulos, na distribuição da circulação centrolobular de ratos<sup>131</sup>, no princípio de Delesse, já utilizado por Lopasso<sup>152</sup> e por Scheuer<sup>174</sup>, e em cortes perpendiculares das áreas ocupadas pelos hepatócitos. Idealizaram-se, então, volumes teóricos, através da criação de corpos de revolução, a partir das áreas de hepatócitos acima consideradas. Esses resultados foram, então, transformados em percentuais volumétricos grosseiros, corrigidos posteriormente pela razão entre o peso do fígado e do corpo, pelas fórmulas:

$$Ah * Pf = Pfr$$

$$Pfr/Pc * 100 = \%h$$

em que Ah = área dos hepatócitos / área total do campo óptico padronizado ; Pf = peso do fígado ; Pfr = Peso relativo dos hepatócitos ; Pc = peso corpóreo ; %h = percentual dos hepatócitos em relação ao peso corpóreo. Assim, após 21 dias de icterícia, o percentual relativo do volume dos hepatócitos aumentou aproximadamente 27%, nos animais tratados com ração, enquanto o aumento se tornou nitidamente maior (67%) naqueles com complementação de glutamina.

Foi, desse modo, possível conceber que a maior massa de hepatócitos, encontrada no grupo tratado com a glutamina, influenciou na produção de albumina durante a colestase. Por outro lado, não se pôde definir se isso ocorreu por influência da glutamina, pelo aumento na ingestão calórico-protéica desse grupo, ou por ambos os motivos.

Além disso, ainda no final da terceira semana de icterícia, houve a substituição da lâmina limitante e dos hepatócitos periportais por ductulos e tecido conjuntivo. Como conseqüência, reduziu-se o número de hepatócitos responsáveis pela detoxicação da amônia, através da produção de uréia. Por isso, quantidade maior de amônia teve acesso aos hepatócitos perivenosos, ricos em sintetase da glutamina, aumentando as possibilidades de ressíntese de glutamina <sup>114, 115</sup>. Ainda dentro da mesma concepção anterior, o maior volume do total de hepatócitos perivenosos, nos animais tratados com glutamina, propiciou condições para maior síntese desse aminoácido, neste grupo, em relação a do outro. Com a maior oferta de glutamina intestinal, aumentaram as possibilidades de sua captação, de utilização como combustível oxidativo, pelos enterócitos, e da sua passagem intacta para o lado vascular esplâncnico <sup>112, 302, 303</sup>. Nessas circunstâncias, os hepatócitos podem ter decuplicado a utilização de glutamina <sup>16, 128</sup>. Desse modo, essa organização acinar favoreceu a conservação estrutural e funcional dos próprios hepatócitos, através da manutenção do delicado equilíbrio do ciclo intercelular de glutamina <sup>40, 98, 114</sup>. A manutenção dos níveis de albumina no grupo da glutamina evidenciou, de certa forma, a integridade funcional dos hepatócitos. A provável redução na transmigração de endotoxinas, no grupo da glutamina, conservou a função das células de Kupffer que, por sua vez, podem ter influído na manutenção da capacidade de síntese dos hepatócitos <sup>298</sup>.

## 4.2 DECLÍNIO DAS BACTÉRIAS INJETADAS NO SANGUE.

Postulou-se que as alterações do sistema retículo-endotelial puderam contribuir, sobremaneira, para a mortalidade na icterícia obstrutiva. Nesse sistema de fagócitos monomorfonucleares, predominam os macrófagos fixos ou sésseis, localizados principalmente no fígado, no baço, nos pulmões, linfonodos e medula óssea<sup>225</sup>. Nesses órgãos exercem suas funções de defesa, de limpeza, regulação das atividades cooperativas e efetoras, quer na resposta imune, quer na síntese de compostos biologicamente ativos<sup>140, 233, 274, 293</sup>.

Os primeiros autores que estudaram a fagocitose, fizeram-no através da medida da constante de desaparecimento de partículas estranhas, que injetaram no sangue<sup>49, 80, 117, 192</sup>. Denominaram de constante  $k$ <sup>233</sup>, índice granulopéctico<sup>30</sup> ou constante de declínio fracionário do sangue<sup>124</sup>, que nada mais é do que o coeficiente angular da regressão das concentrações das partículas injetadas, em relação ao tempo. Variando a quantidade de partículas injetadas no sangue, verificaram que a velocidade no seu declínio foi inversamente proporcional à dose empregada<sup>30, 49, 124</sup>. Ao se perquirir melhor sobre esse comportamento, notou-se que, de pequenas diferenças na administração das doses mais baixas, resultaram mudanças muito amplas nos valores de  $k$ . Acima de certos valores, porém, a injeção de doses crescentes, dessas partículas, exerceu pouca influência nos valores de  $k$ <sup>30, 49, 124</sup>. Biozzi e colaboradores<sup>30</sup>, o grupo de Benacerraf<sup>24</sup> e, também, o grupo de Iio<sup>124</sup> interpretaram o comportamento de  $k$ , nas doses mais elevadas, como sendo a representação da função do sistema retículo-endotelial (SRE). Nas doses menores, a influência do fluxo sanguíneo, para os órgãos, foi, geralmente, marcante<sup>49</sup>.

Por outro lado, nas doses mais elevadas, o declínio foi muito rápido nos primeiros dois a cinco minutos, quando mais de 50% das partículas injetadas desapareceram<sup>31, 79, 124, 154, 233</sup>. O mesmo foi verificado com a injeção de doses elevadas de bactérias ( $10^9$  UFC), consideradas como quantidade adequada ao estudo da função dos fagócitos<sup>132</sup>. Doses de bactérias, não sensibilizadas por anticorpos, entre  $2 \cdot 10^8$  e  $2 \cdot 10^9 / 100$  g, promoveram decaimento sanguíneo semelhante. A cinética desse declínio das bactérias, viáveis ou inviáveis, é idêntica à dos colóides e da albumina. A dinâmica da sua apreensão pelo SRE também foi análoga<sup>24</sup>.

Inspirados nas considerações anteriores, obtiveram-se amostras sanguíneas a partir de 30 segundos, após a injeção das bactérias marcadas com  $^{131}\text{I}$ . Os valores dessas

amostras iniciais, de meio minuto, foram errantes e, muitas vezes, inferiores àqueles do primeiro minuto após a injeção do inóculo. Interpretou-se esse desarranjo como sendo fruto da falta de homogeneidade na mistura das bactérias com o sangue. Por essa razão, desprezaram-se as primeiras contagens.

As maiores contagens por minuto ( cpm ) ocorreram no primeiro minuto, em todos os ratos, a partir das quais se iniciaram as curvas de declínio da radiatividade sanguínea( figs. 1a. e 2a. do apêndice). Essas concentrações máximas que ocorreram aos 60 segundos, nos ratos, diferiram dos dois minutos, no cão, e dos cinco minutos, no homem <sup>124</sup>.

À partir dos valores máximos, estudaram-se as curvas do declínio das emissões radiativas, inicialmente, através de regressões polinomiais e análise da variância. O melhor ajuste dessas curvas foi propiciado por equações do terceiro grau ( figs. 1a. e 2a. do apêndice ). Desprezando-se as duas medidas finais, por terem tendência ascendente, e se fragmentando a curva, formada pelos dados do primeiro ao décimo minutos, em duas partes, verificou-se que os primeiros 4 a 6 minutos têm comportamento quase linear ( figs. 3a. e 4a. do apêndice ). Para melhor avaliar essa parte inicial, realizaram-se regressões exponenciais. Demonstraram elevado grau de correlação, pequena variância e comportamento compatível com equação do primeiro grau, quando em escala semilogarítmica ( figs. 5a. e 6a. do apêndice ). Quando se consideraram os dados locados até o décimo minuto, a correlação foi ligeiramente menor, mas, foi notório o afastamento visual de uma exponencial pura ( figs. 9a. e 10a. do apêndice ). Nos gráficos da figura 7a. do apêndice, observaram-se os pontos de inflexão, que geralmente se situaram entre o quarto e o sexto minutos. No grupo da glutamina a inflexão foi mais precoce, geralmente entre o terceiro e o quarto minutos ( fig. 8a. do apêndice ). Além disso, quando se plotaram somente os dados do sexto ao décimo minutos, a determinação do intercepto demonstrou nítido afastamento dos valores injetados ou daqueles extrapolados do primeiro fragmento da curva. E mais, após o sexto minuto, as cpm, por serem muito baixas, próximas às do BG, tiveram variações muito acentuadas, o que obrigou os operadores a aumentarem o número de leituras, frequentemente acima de oito. Embora se saiba que o número de leituras esteve aquém do ideal, por apresentarem os valores distribuição do tipo Poisson <sup>130</sup>, teve-se de considerar as alterações e deteriorações das amostras em relação ao tempo. Assim, amparados por essas considera-

ções e pelos estudos clássicos <sup>31, 124, 230</sup>, optou-se pela utilização dos valores dos primeiros seis minutos, para o cálculo dos índices globais de fagocitose <sup>233</sup>.

Como teste complementar, injetaram-se bactérias na veia periférica de ratos, em condições qualitativas e quantitativas análogas entre si e às dos experimentos atuais. No momento do sacrifício, aos 6, 10 e 12 minutos, a distribuição do material, pelos órgãos, foi percentualmente idêntica. Também foram muito parecidos entre si os valores absolutos das cpm medidas diretamente nos órgãos. O mesmo ocorreu, quando se calcularam essas cpm de captação, pelas regressões exponenciais dos dados dos 6 minutos iniciais. Se, em conjunto, analisarem-se os trabalhos dos grupos de Katz <sup>132</sup>, de Almdahl <sup>6</sup>, de Megison <sup>164</sup> e de Ball <sup>19</sup>, nota-se que foi muito pequena a diferença entre o declínio sangüíneo de bactérias, medidas no segundo, no terceiro, no décimo-quinto e no trigésimo minutos.

Iio e Wagner Jr <sup>124</sup> usaram microagregados de albumina marcada com radioisótopos e obtiveram curvas parecidas com as acima descritas, inclusive com elevação após o décimo-segundo minuto. Removeram o iodo livre, através do uso de resinas, e verificaram que houve melhor ajuste na curva, a partir do quinto minuto, resultando no desaparecimento da elevação final. Reputaram o iodo livre ao produto final da fagocitose do material marcado, que pôde representar mais de 12% do total <sup>124, 196</sup>. Saba <sup>233</sup> atribuiu esse comportamento à heterogeneidade no tamanho das moléculas, enquanto Bergqvist e colaboradores <sup>27</sup> responsabilizaram não só as dimensões, mas, também, os atributos das suas superfícies, que, por sua vez, poderiam influenciar o sistema mononuclear de defesa. Apoiados em pesquisas *in vitro* <sup>28</sup> e *in vivo*, O'Connor Allen e colaboradores <sup>179</sup> demonstraram que existe escape de radiatividade de bactérias marcadas por radioisótopos. Enfatizaram que não se deveu a defeito técnico, pois as mesmas bactérias, incubadas com soro, não liberaram radioisótopos, durante o mesmo tempo de observação. Essas evidências permitiram que se considerasse a segunda parte das curvas da figuras 1a. e 2a. do apêndice como sendo a representação do equilíbrio entre a captação das bactérias e a liberação de iodo livre. A liberação do isótopo livre poderia ter aumentado no final da curva, traduzindo-se pela elevação no final da curva.

Por causa da quantidade elevada de bactérias ou de partículas injetadas nesses experimentos, e do comportamento da curva de declínio <sup>24</sup>, aventaram, alguns autores, a possibilidade da saturação dos macrófagos por partículas já fagocitadas. Essa teoria,

porém, não foi totalmente aceita <sup>233</sup>. Benacerraf e colaboradores <sup>24</sup> demonstraram que a atenuação da curva ocorreu sempre que acrescentaram, às bactérias, partículas coloidais. Esses autores atribuíram o fenômeno à competitividade entre bactérias e colóide. No estudo atual, a contaminação com partículas do meio de cultura foi pouco provável, por causa dos cuidados que se tomaram no preparo das bactérias, principalmente através das múltiplas lavagens, antes e depois da introdução do <sup>131</sup>I.

Esse conjunto de dados e de hipóteses reforçou, grosso modo, a recomendação anterior de que se deve considerar somente a porção inicial do declínio exponencial das partículas injetadas no sangue. Nesta parte, o erro é mínimo <sup>79</sup>, enquanto a porção final da curva pode propiciar erro exagerado e, portanto, inconveniente <sup>89</sup>.

#### 4.2.1 Índices de fagocitose

No grupo ração, o índice de fagocitose global, como indicativo da eficiência do sistema monomorfonuclear de fagócitos <sup>24, 31, 80, 230</sup>, teve o comportamento compatível com o da literatura, ou seja, depressão progressiva, em relação ao tempo de icterícia <sup>50, 74, 75, 117, 242, 273</sup>. Os valores absolutos da literatura, todavia, não foram comparáveis entre si e o seu poder discriminante não foi universalmente aceito <sup>117, 132, 179, 210, 231</sup>. Contribuíram para essa variabilidade, além dos fatores anteriormente apontados, o tipo de bactéria usada <sup>24</sup>, a dose administrada <sup>24, 75, 132</sup>, a espécie do animal estudado <sup>24, 54</sup> e, principalmente, os intervalos iniciais de colheita das amostras, assim como da forma de sua utilização na estruturação das curvas <sup>9, 24, 54, 80, 132, 242</sup>. Encontrou-se o espelho do índice da fagocitose na captação total das bactérias pelos órgãos. Reafirmou-se, assim, através da medida direta nos tecidos, a deficiência na fase inicial da fagocitose, na colestase.

O papel preponderante dos macrófagos, nesses testes, foi demonstrado de maneira convincente por microscopia eletrônica <sup>19, 132</sup> e por auto-radiografia <sup>24, 236</sup>. Os autores que usaram esses procedimentos demonstraram que houve englobamento idêntico ao das bactérias, aos 15 minutos, tanto nos controles quanto nos animais com colestase. A diferença esteve a cargo da velocidade na destruição dos microorganismos englobados, mais rápida nos controles, mais lenta na colestase <sup>19</sup>. Os testes que se realizaram, no presente estudo, demonstraram essencialmente a capacidade de aderência das bactérias ou de englo-

bamento delas pelos macrófagos. Vistas de outra maneira, as medidas traduziram o estado funcional de SRE já existente no momento da injeção do inóculo em bolo. Nestas circunstâncias, até a participação do sistema do complemento é controversa<sup>172</sup>. Além disso, o papel eventual dos polimorfonucleares foi minorado, nas medidas das cpm diretamente nos tecidos, pela lavagem do conteúdo dos vasos sanguíneos, durante os procedimentos de sacrifício.

Os macrófagos, entretanto, provavelmente não agiram isoladamente, mas, sim, de maneira integrada. Os mediadores exercem influências autócrinas, parácrinas e endócrinas<sup>1, 41, 153, 170, 213, 225, 293</sup>. Isto significa que, ao se unirem às células-alvo, não só influenciam a própria célula, mas podem também atuar nas células vizinhas, ou nas mais distantes, através de um segundo sistema de mensageiros. Esses eventos podem, então, juntamente com outras citocinas, alterar a proliferação, a diferenciação, ou a função dessas células, de tais maneiras, que conseguem atenuar ou amplificar as suas influências<sup>123, 153</sup>. A comprovação da existência da imunodepressão celular, na colestase, foi recente<sup>75, 76, 109, 132, 133</sup>, mormente nos linfócitos T e nos polimorfonucleares<sup>226, 227, 278, 286</sup>. A participação dos linfócitos B<sup>286</sup> e de metabólitos, como bilirrubinas e sais biliares<sup>134</sup>, continua questionável.

Neste estudo, os índices de fagocitose aparentemente não sofreram a influência de infecções detectáveis. Não se encontraram indícios macroscópicos de infecção biliar, nem evidências microscópicas da sua existência, especificamente, quer nos cortes do parênquima hepático, quer nos cortes dos ductos hilares, onde não houve hiperplasia da mucosa<sup>185</sup>. Além disso, tornou-se patente, recentemente, que as infecções, ainda que graves, pouco influenciaram na fagocitose, durante a colestase e, na ausência da icterícia, mantiveram os índices dos ratos controle<sup>75</sup>, embora, a mortalidade tenha sido diretamente proporcional ao número de bactérias existentes<sup>127</sup>. Por outro lado, a colestase não alterou a imunidade específica de animais sem germes, enquanto promoveu conspícua imunodepressão em animais convencionais,<sup>109</sup>. Como responsáveis pela imunodepressão, foram sugeridas as endotoxinas. Curiosamente, porém, em animais<sup>109</sup> e em humanos<sup>17, 192, 194</sup> não se encontrou correlação entre o grau de icterícia e os níveis de endotoxinas, que chegaram a ser idênticos aos dos controles anictéricos. Isso, aparentemente, debilitou a tese do papel desempenhado por essas toxinas bacterianas. Mas, a administração crônica de doses míni-

mas de endotoxinas, a ratos convencionais, hípidos, reproduziu o comportamento imune daqueles com colestase <sup>109</sup>.

Na icterícia do grupo glutamina, contudo, ambos os índices, o de declínio sangüíneo e o da captação total dos órgãos, foram idênticos aos dos controles. Portanto, houve a conservação da eficiência, pelo menos, da primeira fase da fagocitose. A exceção ocorreu no sétimo dia, em que houve atenuação nítida no declínio das contagens das amostras do sangue. É possível que, na primeira semana, os resquícios das reações do estresse da ligadura do ducto biliar <sup>82, 127, 155, 215, 234, 283</sup> se manifestaram como tal, uma vez que, na icterícia, o comportamento habitualmente difere daquele da simples agressão cirúrgica ou da infecção isolada <sup>75</sup>. Além disso, demonstrou-se que a administração de glutamina não impediu o balanço nitrogenado negativo, nos primeiros dias do pós-operatório, ainda que o tenha atenuado <sup>264</sup>. Da mesma forma, não houve aumento de peso, nos demais dias, o que também ocorreu no grupo tratado com a outra dieta <sup>219</sup>. Portanto, pôde-se presumir que, no início do período de colestase, diminuiu a utilização periférica da glutamina administrada <sup>234</sup>, apesar da possibilidade teórica da existência de aumento na sua extração, no consumo e no efluxo de citrulina - precursor na síntese de purinas e pirimidinas - para o sistema portal <sup>112, 160</sup>. Nesses dias, então, a glutamina exógena pode ter exercido efeito menor no sistema imune, por não terem esses animais superado todo o desequilíbrio metabólico entre produção endógena, afluxo exógeno e aumento das necessidades na utilização desse aminoácido, principalmente, pelas células de rápida reprodução <sup>170, 254, 258</sup>.

O interessante foi que, ao se compararem os controles dos dois grupos, evidenciou-se expressiva diferença entre si. Os índices de fagocitose dos animais tratados com glutamina demonstraram maior eficiência do que os tratados com ração balanceada. Esta diferença foi provocada, certamente, pela dieta enriquecida pela glutamina, administrada durante os seis dias do pré-operatório, que também favoreceu o desempenho durante a icterícia <sup>219, 221, 222, 224</sup>. Os mecanismos dos fenômenos anteriores não foram ainda estabelecidos. O aumento na passagem da glutamina para o lado vascular <sup>112</sup>, contudo, e a sua melhor utilização como combustível na própria mucosa, como reflexo da conservação da atividade da glutaminase em níveis elevados <sup>81</sup>, podem ter desempenhado papel preponderante durante o estresse propiciado pela obstrução biliar <sup>259</sup>. Com isso, as alterações da mucosa foram menores, chegando aos padrões do controle, no final da terceira semana de colestase. A

redução na transmigração de endotoxinas tornou-se hipótese verossímil <sup>53, 222</sup>. O resultado seria a sua menor influência nos fagócitos sésseis, redução nas citocinas <sup>109, 293</sup>, diminuição na liberação dos produtos dependentes da ciclooxigenase e de outros metabólitos <sup>170, 187</sup>. Com isso, haveria a mitigação na intensidade <sup>170</sup> e na duração <sup>92</sup> da reação inflamatória sistêmica. Reforçaram parcialmente essas idéias as experiências realizadas em camundongos C3H/HeJ, que não podem sintetizar o fator de necrose tumoral, em que a injeção de endotoxinas não conseguiu promover seus efeitos deletérios <sup>29</sup>.

Por outro lado, reconheceu-se, recentemente, que a glutamina foi indispensável ao crescimento e à proliferação de células em cultura <sup>254</sup>. Portanto, a glutamina pode ter exercido um efeito direto nos fagócitos monomorfonucleares, influenciando a reprodução e a sua integridade funcional <sup>38, 117, 246</sup>. Portanto, a conjugação desses efeitos diretos com os indiretos, decorrentes da conservação parcial da barreira intestinal <sup>116, 255</sup>, podem ter sido suficientes para a manutenção da competência dos fagócitos, similar à dos controles, ao longo do período da observação da colestase.

#### 4.3. COMPORTAMENTO DOS ÓRGÃOS NA CAPTAÇÃO DAS BACTÉRIAS MARCADAS.

A captação conjunta do fígado e do baço, nos controles, de ambos os grupos, foi de aproximadamente 74%, portanto, semelhante ao encontrado por alguns autores <sup>132 133</sup>. Foi, contudo, significativamente menor do que a da maioria dos relatos da literatura, entre 85 e 95% do total das bactérias aprisionadas <sup>164, 232, 233, 242</sup>. Embora não tenha sido explicitado na literatura consultada, é possível que, parte dessa diferença de captação tenha sido o reflexo da maneira como consideraram o conjunto dos órgãos: se somente aqueles testados, ou, como se fez neste estudo, dobrando os valores dos órgãos pares, como os do pulmão e do rim. De qualquer maneira, a captação, pelo fígado, refletiu a função consensual de 80% de todos os macrófagos fixos do corpo, representados predominantemente pelas células de Kupffer <sup>270</sup>. Esses valores, contudo, foram fruto de avaliações essencialmente qualitativas. A análise quantitativa, dos dados da literatura, apresentou disparidade marcante, novamente como consequência das variações técnicas, das vias de inoculação, do tempo de observação e dos equipamentos de leitura <sup>84, 164, 179, 241, 242</sup>.

Nos subgrupos com icterícia, tratados com ração, a apreensão de bactérias pelo fígado diminuiu progressivamente, atingindo 44%, no final da terceira semana. Esse declínio foi mais atenuado do que os 79% encontrados por Katz e colaboradores<sup>132, 133</sup>, porém, mais acentuado do que o daqueles observados por outros<sup>164</sup>. Curiosamente, alguns autores obtiveram variações mínimas na capacidade de captação do fígado e do baço, em relação à dos controles<sup>273</sup>. Uniformidade semelhante só se encontrou nos ratos tratados com glutamina complementar. Portanto, pôde-se deduzir, baseado em demonstrações recentes<sup>19, 132, 236</sup>, que, no grupo glutamina, o sistema de fagocitose desses dois órgãos manteve a função de englobamento aparentemente inalterada, semelhante à do controle. Além disso, a possível massa dos hepatócitos, nesse grupo, conforme raciocínio anterior, foi maior do que nos ratos tratados só com ração. O número de células de Kupffer foi presumivelmente maior, no grupo da glutamina, pois variaram com a massa de hepatócitos, uma vez que se localizaram ao longo dos sinusóides.

A medida do total de bactérias captadas pelo fígado e pelo baço não traduziu o estado funcional dos fagócitos em si, porque sofreram a influência da variação dos seus pesos. Conseguiu-se melhor representação da sua atuação, através da medida das cpm, em relação à unidade de peso de cada órgão. Com os dados assim purificados, comprovou-se a eficácia da glutamina nos macrófagos do fígado. Apesar disso, essas células de Kupffer sofreram a influência da icterícia. Apresentaram um declínio funcional progressivo, em relação ao tempo, ainda que menos intenso do que no grupo tratado exclusivamente com ração. Logo, os mecanismos protetores, que pareciam satisfatórios quando se considerou o órgão como um todo, tiveram, na realidade, atuação parcial. Dentre os mecanismos que sofreram proteção incompleta, a integridade anatômica da mucosa intestinal não pareceu corresponder à funcional, como já se verificou anteriormente neste laboratório, em relação à translocação bacteriana<sup>218, 221, 222</sup>. Mas, apesar de a translocação ter sido usada como bom indicativo da integridade funcional da mucosa intestinal<sup>69, 2, 295</sup>, a permeabilidade às endotoxinas pode ser diferente<sup>66, 68</sup>. Nesse sentido, Alexander e colaboradores<sup>3</sup> demonstraram que, enquanto as bactérias, provenientes do intestino, foram predominantemente barradas pelos órgãos linfóides, as endotoxinas o foram pelas células de Kupffer. Portanto, é provável que aí os lipopolissacarídeos exerçam a maior interferência, deprimindo sua função de englobamento<sup>57, 74, 286</sup>. Com a influência favorável da glutamina, esses macrófagos são

menos estimulados pelas endotoxinas, por existir menor permeabilidade intestinal, reduzindo a produção de citocinas e outros fatores tóxicos<sup>13, 109, 155</sup> e, deste modo, influenciar e sofrer influências de outras células, como os polimorfonucleares e os próprios hepatócitos<sup>13, 43, 55, 60, 251, 260, 261, 299</sup>.

Os fagócitos do baço, por outro lado, não sofreram as influências da dieta. O seu declínio funcional foi progressivo e idêntico nos dois grupos. Não se sabe até que ponto a própria dinâmica circulatória esplâncnica possa ter influenciado esse comportamento.

Depois do fígado, os pulmões foram os órgãos que apreenderam a maior parcela do inóculo. Captaram, nos subgrupos controle, percentual significativamente maior do que o de outros laboratórios<sup>132, 133, 273</sup>. Os valores por grama de tecido, também foram superiores àqueles relatados por outros pesquisadores<sup>74, 76, 164, 273</sup>. É possível que esta diferença seja devida à influência da manipulação, durante os testes<sup>232</sup> e, eventualmente, do tipo de produto do cepilho ou da serragem, usado no assoalho das gaiolas<sup>139</sup>.

Nos ratos com icterícia, tratados com ração, o aumento progressivo na captação pulmonar, também, teve tendência semelhante àquela observada por outros pesquisadores<sup>132, 133, 164, 273</sup>. O seu comportamento, comparado ao percentual de captação do fígado, evidenciou a correspondência inversa dos dois órgãos, quer no grupo da ração, quer no grupo da glutamina. Daí, a atrativa concepção de que o comportamento do pulmão representaria mecanismo compensatório da depressão funcional das células de Kupffer<sup>132, 143</sup>. A inoculação por veia periférica, porém, propiciaria ao pulmão as condições de aprisionamento máximo das bactérias, por ser o primeiro órgão na sua passagem<sup>73</sup>. Considerando-se o tamanho do inóculo, é provável que ultrapassasse facilmente a capacidade dos fagócitos pulmonares<sup>19, 132, 226, 280</sup>, apesar do aumento progressivo do número de macrófagos, na colestase. No sentido de dirimir dúvidas, alguns pesquisadores inocularam bactérias, pela circulação portal de animais com icterícia, para que medissem a capacidade real de englobamento das células de Kupffer, e surpreenderam captação pulmonar ainda maior do que a ocorrida na injeção por veia periférica. Através de microesferas, introduzidas pela mesma rota portal, comprovaram a existência de anastomoses vasculares, capazes de desviarem parte do sangue, da circulação esplâncnica, diretamente para a sistêmica<sup>164</sup>. Como consequência, a redução no englobamento dos microorganismos pelo fígado poderia ser devido à diminuição no seu aporte, ainda que o fluxo total do fígado possa estar conservado<sup>75, 192</sup>.

Apesar das evidências da existência de *shunts* na circulação hepática, a ablação do baço de ratos com colestase, restituiu o comportamento do fígado e do pulmão, aos níveis dos controles<sup>117, 132</sup>. É pouco provável que a esplenectomia possa alterar essa anatomia vascular tão rapidamente. Por outro lado, é possível que a endotoxemia portal, tendo o fígado como intermediário, estimule a produção esplênica de fatores imunodepressores solúveis, capazes de atuarem nos fagócitos distantes<sup>3, 156</sup>. Portanto, a asplenia poderia ab-rogar a produção de fatores como esses, permitindo a plena função dos fagócitos<sup>186, 293</sup>.

Da mesma forma que ocorreu no fígado, a glutamina conservou o poder de captação pulmonar, semelhante ao dos controles. Na medida, em relação à unidade de peso tecidual, também se documentou a nitida influência da glutamina, no período final da observação. No vigésimo-primeiro dia de colestase, o pulmão se comportou como no controle. De maneira equivalente à do fígado, porém, em sentido inverso, os controles desse grupo captaram significativamente menos bactérias do que os controles tratados com ração. Além disso, por razões que não se puderam esclarecer, neste estudo, o tipo de dieta não influenciou o comportamento do sistema mononuclear de fagócitos, na primeira e na segunda semanas de icterícia.

As variações que se observaram no número de macrófagos, não tiveram correlação com os valores de captação das bactérias. Por outro lado, o número de macrófagos alveolares foi, *ad diem*, significativamente maior, no grupo da glutamina, do que no grupo da ração, enquanto a captação comportou-se ao contrário. Sabe-se que os macrófagos alveolares captam bactérias e partículas aspiradas, mas, representam efetivamente mononucleares que migram constantemente das paredes alveolares<sup>132, 139</sup>. Por isso, podem, eventualmente, traduzir as tendências do comportamento celular das várias horas que antecedem os testes<sup>73, 85</sup>. As suas funções, contudo, são demasiadamente complexas, porque são dependentes das interações das várias células que lá habitam e que por lá transitam, orquestradas por complexos sistemas de mediadores, a distância, adjacentes e autonômicos<sup>23, 58, 141, 143, 150, 173, 220, 226, 251</sup>. De maneira inversa, os acontecimentos ocorridos no ambiente pulmonar podem exercer influência no fígado, traduzindo-se por alterações nos valores sanguíneos das aminotransferases<sup>251</sup>, assim como em outros sistemas<sup>156</sup>. Ainda mais, o pulmão pode ser órgão produtor de glutamina<sup>207</sup>, mas não se sabe do comportamento desse aminoácido na icterícia obstrutiva e, menos ainda, do seu desempenho, quando se adminis-

tram quantidades maiores na dieta. Portanto, as conclusões são inviáveis. Mas, foi possível conjecturar que, nos ratos com 21 dias de colestase, tratados com ração, as células da fagocitose estivessem ativadas, enquanto naqueles tratados com glutamina, houve maior proliferação celular - por ação eventual da glutamina - porém, com menor ativação<sup>51, 118, 132, 216, 293, 304</sup>.

A icterícia tem repercussões mais extensas do que as que se observaram no englobamento de bactérias. As outras etapas da fagocitose, em especial a capacidade bactericida dos fagócitos, também, estão deprimidas<sup>19, 73, 85, 132, 216</sup>. Essa depressão atinge principalmente o pulmão, na icterícia, seguida do fígado<sup>85, 239</sup>.

Observou-se distribuição, pelos demais órgãos, semelhante àquela mencionada na literatura<sup>132, 133, 273</sup>. A medida da captação, por grama de tecido esplênico, demonstrou que houve declínio diretamente proporcional ao tempo de colestase. Não houve influência da glutamina. Scott-Conner e Grogan<sup>240</sup> demonstraram recentemente que os esplenócitos podem ser os responsáveis pela imunossupressão na icterícia obstrutiva, uma vez que, a remoção da fração aderente dessas células corrige a imunodeficiência. Contudo, novos estudos são necessários para que se tenha noção da influência que a glutamina da dieta poderia exercer no comportamento dessas células.

#### 4.4 CONSIDERAÇÕES SOBRE A BARREIRA DA MUCOSA INTESTINAL.

De todas as considerações anteriores, quer deste capítulo, quer dos anteriores, depreendeu-se que as endotoxinas estão, de alguma forma, envolvidas nas alterações relacionadas à colestase. Não se comprovou, de maneira segura, a existência de correlação entre o grau de icterícia e a quantidade desse lipopolissacarídeo na circulação portal ou na sistêmica<sup>17, 109, 192, 194</sup>. Mesmo assim, a sua participação pareceu ser marcante. Nesse sentido, algumas demonstrações foram peremptórias: ratos, sem bactérias, não produziram fator de necrose tumoral, na colestase, enquanto os convencionais tiveram todas as repercussões conhecidas<sup>109</sup>; linhagem de camundongos, que não conseguem sintetizar essa citocina, não apresentaram efeitos deletérios, após a injeção de endotoxina<sup>29</sup>, ainda que não tenha havido redução na translocação<sup>63</sup>; a administração crônica de doses mínimas de lipopolissacarídeos, a ratos convencionais, hígidos, simulou o comportamento imune daqueles com coles-

tase<sup>109</sup>. Além disso, essas endotoxinas reproduziram as alterações da mucosa intestinal<sup>62, 65</sup>, encontradas em ratos ictericos<sup>69</sup>, parcialmente mediadas por produtos resultantes da ação da oxidase da xantina<sup>65, 70, 201</sup>. Daí, a sugestão de que as alterações celulares possam ser secundárias à isquemia transitória, pois as endotoxinas produzem redução no fluxo sanguíneo nutrienste<sup>15</sup>.

Ainda no campo experimental, as lesões intestinais se desenvolveram em pouco mais de uma hora, após aumento da pressão portal, provocado por hepatectomia parcial. Nesse curto período, houve acentuada redução na área e na altura das vilosidades, em cujas extremidades apareceram nítidas áreas de necrose<sup>289</sup>. Num período de 4 horas, houve queda inicial acentuada e recuperação do fluxo das pequenas artérias, concomitante à manutenção da redução de mais de 60%, na microcirculação. Esse comportamento dissidente da circulação intestinal foi acompanhado de queda acentuada e progressiva da pressão arterial. Após 5 dias, a pressão portal continuou elevada, o seu fluxo e o arterial esplâncnico dobraram, ao mesmo tempo em que houve progressivo desenvolvimento de *shunts* porto-sistêmicos<sup>305</sup>, proporcionais aos níveis de pressão da veia porta<sup>181</sup>. Sugeriram esses pesquisadores que esse desvio da circulação, da influência do metabolismo hepático, aumentou as taxas sistêmicas de prostaciclina ( PGI<sub>2</sub> ) e de glucagon, que poderiam influir na hiperemia esplâncnica<sup>166, 181, 252</sup>.

Embora o comportamento hemodinâmico, na obstrução biliar, seja controverso<sup>95, 145, 159, 182</sup>, há embasamento suficiente para a comparação ao da hepatectomia parcial<sup>147</sup>. O aumento paralelo da pressão e do fluxo portais, a hiperemia esplâncnica, a sua baixa resistência vascular e o *shunt* porto-sistêmico são similares<sup>147, 305</sup>. Essas evidências induziram a se conjecturar que exista, uma fase inicial, em que as alterações circulatórias e a hipertensão portal sejam dependentes, predominantemente, dos mecanismos de aumento no influxo<sup>25</sup> e, posteriormente, também, da redução do espaço vascular intra-hepático<sup>147</sup>. Além disso, a ligadura do ducto biliar aumenta rapidamente os níveis do peptídeo natriurético atrial, responsável pela acentuada hipodipsia e hipofagia, que podem contribuir para depleção isotônica do volume circulante<sup>157, 204, 269, 285</sup>, ao mesmo tempo em que diminui a responsividade a vasoconstritores, como angiotensina II, catecolaminas e outros<sup>35, 166</sup>, e diminui sobremaneira a capacidade de contração do miocárdio<sup>108</sup>.

No intestino, a flora normal promove a constante liberação de fragmentos da cápsula externa de bactérias, e as endotoxinas estão, portanto, presentes em grandes quantidades, sem que causem efeitos deletérios. Endotoxinas, em doses elevadas, quando administradas pela luz intestinal, em animais normais, não são detectados em quantidades significativas, na circulação <sup>71</sup>. A translocação bacteriana, contudo, pode ocorrer sem que haja lesão da mucosa intestinal <sup>86</sup> e, na isquemia, por exemplo, ocorre o contrário: transmigração de endotoxinas, sem a passagem de bactérias para a circulação <sup>199</sup>. A injeção sistêmica do lipopolissacarídeo produz alterações discretas do intestino <sup>63</sup>.

Esse conjunto de evidências permitiu que se presumisse que, dificilmente a endotoxemia precedesse quaisquer alterações na mucosa intestinal. Os mecanismos das alterações circulatórias, na obstrução biliar, ainda são especulativos, assim como o são as suas repercussões nas vísceras. É possível, contudo, imaginar que as flutuações no fluxo das arteríolas, e o comportamento discrepante da microcirculação, possam simular condições de hipoperfusão e reperfusão, em que pesem todos os mecanismos de compensação <sup>148, 237, 306</sup>. Iniciada a mudança anátomo-funcional da barreira mucosa, as endotoxinas e bactérias, que aumentaram por proliferação intestinal, podem penetrar na parede, translocar para os linfáticos e circulação, promovendo a ampliação da própria lesão da mucosa, assim como exercendo seus efeitos deletérios a distância <sup>59, 70, 91 97, 135, 156, 167, 191, 198, 214, 266, 279</sup>, ou até favorecer a fibrose portal, piorando o espaço vascular intra-hepático e aumentando a própria pressão portal <sup>136</sup>.

O sistema de pontuação, que se adotou no presente estudo, traduziu as alterações microscópicas que ocorreram na mucosa intestinal. As lesões foram progressivamente maiores, à medida que avançou o tempo de colestase, como que a indicar as seqüências de complexos mecanismos que se autoalimentaram na deterioração progressiva, local, regional e sistêmica. Deitch e colaboradores <sup>69</sup> encontraram alterações similares, na colestase de camundongos. Outras situações, porém, como a simples desfuncionalização intestinal, que ocorre na alimentação parenteral <sup>47, 120 137, 168</sup>, a administração de endotoxinas <sup>63, 65, 70</sup>, curtos períodos de hipotensão <sup>238, 251</sup>, na isquemia e reperfusão <sup>110, 148, 200, 237</sup>, até na gravidade maior, como o choque <sup>20, 171</sup>, produzem lesões da mucosa intestinal, idênticas àquelas da icterícia obstrutiva. As discrepâncias entre o fluxo e as necessidades de oxigênio

intracelular<sup>61</sup> parecem ter criado um denominador comum, relacionado com a produção de radicais tóxicos, derivados do oxigênio<sup>65, 70, 110, 148, 201, 238</sup>.

A glutamina protegeu a mucosa, principalmente na segunda e na terceira semanas de colestase. Provavelmente, não atuou nas pressões portais, pois as alterações teciduais e as variações do peso, do fígado e do baço, foram semelhantes, nos dois grupos.

Ambos os grupos receberam água e ração *ad libitum* até 30 minutos antes das operações ou dos testes. Desta forma, as possíveis modificações no fluxo esplâncnico, provocadas pela refeição, foram teoricamente idênticas, nos dois grupos. No grupo tratado por glutamina, contudo, logo após a ligadura do ducto biliar, os ratos ingeriram solução com glutamina, enquanto, no grupo ração, ingeriram água. Demonstrou-se, recentemente, que a colocação de solução alimentar no delgado de cães, aumentou sobremaneira o fluxo sanguíneo na parede da região onde o alimento se encontrou. Entretanto, na porção distal, como o íleo, houve significativa vasoconstrição<sup>144</sup>. Assim, existiria maior possibilidade de lesão no grupo da glutamina do que no da ração. Contudo, a glutamina residual da luz intestinal e a sua reingestão, logo após a operação, poderiam ter protegido a mucosa, pela combinação da ação do aminoácido, que promove a vasodilatação das arteríolas pre-vilositárias, e pela ação dos açúcares, contidos na mesma dieta, atuando, também, no mesmo sentido<sup>93</sup>. Além disso, o produto que se usou para administrar glutamina contém quantidades grandes de arginina, que, entre todas as funções favoráveis, poderia facilitar a produção de óxido nítrico, poderoso vasodilatador<sup>83, 169, 197, 198</sup>. O óxido nítrico é um fator relaxante do endotélio e, na endotoxemia e bacteriemia, pode se contrapor aos efeitos dos vasoconstritores e citocinas, da reação inflamatória sistêmica<sup>197</sup>. Com reservas, pode-se presumir que esse fator relaxante derivado do endotélio tenha atuado, no grupo da glutamina, de maneira a manter a perfusão da parede intestinal, contrapondo-se, talvez, até às ações dos radicais tóxicos derivados do oxigênio, e desta forma, ter atenuado os efeitos deletérios das variações hemodinâmicas descritas anteriormente<sup>169, 197</sup>. Do mesmo produto, os ácidos graxos  $\omega$ -3, ao serem incorporados na membrana endotelial, aumentam a fluidez das suas membranas e, através disso, facilitam a rápida difusão dos fatores relaxantes do endotélio ou óxido nítrico, para o interior das células<sup>83, 169, 197, 198</sup>. Atuariam, eventualmente, de maneira sinérgica com a glutamina, mantendo a perfusão tecidual mais constante, e, desta forma, protegendo melhor a mucosa intestinal. Ainda mais, os triglicérides de cadeia mé-

dia, também presentes na dieta, podem ter contribuído para a integridade celular, através de um aumento na incorporação celular de aminoácidos como a glutamina<sup>96, 101, 154</sup>.

Além dos efeitos nutricionais da glutamina, nos enterócitos, durante as situações de estresse<sup>22, 48, 257, 258, 292</sup>, a dieta enriquecida por glutamina pode aumentar a produção e disponibilidade de glutatión, que funciona como carreador de intermediários reativos do oxigênio<sup>113, 245</sup>. Mais ainda, existem evidências de que a glutamina da dieta aumenta a secreção de IgA secretor e, conseqüentemente, diminui a enteroaderência das bactérias<sup>43</sup>. Esse conjunto de ações, propiciados por essa dieta enriquecida de glutamina, pode contribuir na manutenção da barreira mucosa, na colestase.

Demonstrou-se, anteriormente, que a glutamina, além de conservar a anatomia, manteve, também, a função da mucosa intestinal, de tal modo que a translocação de bactérias injetadas na luz intestinal para o linfonodo mesentérico é menor do que nos ratos ictéricos correspondentes, tratados com ração balanceada<sup>218, 222</sup>. A injeção sistêmica de bactérias destinou-se a testar a eficiência do sistema mononuclear de fagocitose do linfonodo mesentérico. A captação foi significativamente menor nos ratos tratados com glutamina, como órgão total e por unidade de peso. É possível que a maior conservação da mucosa, no grupo da glutamina, tenha reduzido a transmigração de endotoxinas e de bactérias, de tal modo que os macrófagos foram preparados menos para a fagocitose, do que os animais com maior alteração da mucosa.

Wells e colaboradores<sup>296</sup> provocaram a translocação de bolinhas de Látex. Foram captadas quase exclusivamente pelos macrófagos dos linfonodos mesentéricos. A população desses linfonodos é formada de 97 a 98% de linfócitos e somente 2 a 3 % de macrófagos. Quando injetaram *E. coli* marcadas com fluoresceína, na luz intestinal, a quantidade recuperada de bactérias foi extremamente baixa. Provavelmente 1 em cada 1000 macrófagos tem bactéria englobada. Nenhuma bactéria ou bolinha de Látex foi encontrada em linfócito. Por outro lado, a glutamina é essencial no metabolismo e na função dos linfócitos. Assim, a captação desse aminoácido pelos linfócitos é paralelo ao estado proliferativo da célula. Os linfócitos em repouso consomem consideravelmente menos glutamina do que as células estimuladas ou em transformação. A glutaminase, que regula a velocidade do metabolismo intracelular, provê os linfócitos, nos linfonodos mesentéricos, com mais glutamina como fonte de energia. Pelos produtos intermediários, suporta a biossíntese de

nucleotídeos e proliferação durante os tempos de infecção, quando a barreira mucosa pode tornar-se comprometida<sup>235</sup>.

#### 4.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.

De uma maneira geral, houve diminuição progressiva na capacidade de captação das bactérias-teste pelos fagócitos, a medida que evoluiu o tempo de colestase. Esse fato foi demonstrado, indiretamente, pelo declínio das contagens radiativas no sangue e, diretamente, pelas contagens nos tecidos dos vários órgãos, no final do período de 15 minutos. Assim, ao final desse período, no subgrupo controle, cerca de 93% do inóculo foi distribuído pelos órgãos estudados. Diminuiu progressivamente para 80%, no final da terceira semana de colestase. Desse total de bactérias captadas, o fígado foi responsável por 70 e 44%, respectivamente no subgrupo controle e aos 21 dias de colestase. Os pulmões, aparentemente, atuaram como órgãos de compensação, sendo o seu comportamento inverso ao do fígado. Portanto, a captação dos pulmões foi crescente, em relação ao tempo de icterícia. Ao contrário, as participações do baço e do linfonodo mesentérico foram pouco marcantes.

No grupo em que se complementou a dieta com glutamina, os índices de fagocitose na segunda e na terceira semanas de icterícia foram semelhantes aos do subgrupo controle. Na primeira semana, contudo, houve depressão na fagocitose. Assim mesmo, em todos os períodos, o comportamento dos fagócitos foi significativamente superior (95-98%) neste grupo, em relação ao tratado com ração balanceada. Nos animais tratados com glutamina, a participação do fígado, na captação das bactérias, foi estatisticamente uniforme (66-70%). As células de Kupffer, portanto, mantiveram a função inalterada, durante a icterícia. Os pulmões conservaram a característica de órgão de compensação do grupo da ração, porém, com variação tão discreta quanto a do fígado. Os linfonodos tiveram captação menor nos controles e em todos os subgrupos de icterícia, em relação ao grupo da ração, provavelmente por menor ativação prévia dos fagócitos.

Desde que se aceite o papel desempenhado pelas endotoxinas, todos esses aspectos acenaram para a função da barreira mucosa. Nos animais tratados com ração, as alterações da mucosa foram progressivamente mais intensas, em relação tempo de evolução

da obstrução biliar. As endotoxinas, portanto, exerceram a função presumida na literatura, deprimindo a função das células fagocitárias.

A glutamina, em contraposição, protegeu a mucosa, principalmente na segunda e na terceira semanas de colestase. Isto significou que, na primeira e na segunda semanas de icterícia, a proteção da barreira mucosa possa ter sido parcial. Ocorreu, provavelmente, a transmigração de endotoxinas da luz intestinal para a circulação, ainda que com menor intensidade. Com isso, as células fagocitárias em teste apresentaram, também, depressão funcional progressiva no fígado e no baço, medida em cpm/min. A dieta enriquecida por glutamina só desempenhou papel favorável no fígado, na segunda e na terceira semanas de colestase. Com a mesma medida, no pulmão houve pouca influência na fagocitose, em todos os subgrupos tratados com ração. Nos subgrupos de 7 e de 14 dias, nos animais tratados com glutamina, houve exacerbação e nítida queda, ao fim de 21 dias, mais intensa do que no correspondente do outro grupo.

Ao se juntarem as informações da histologia e a significativa diminuição funcional encontrada no linfonodo mesentérico, pode-se imaginar que, com a menor alteração da mucosa intestinal no grupo da glutamina, tenha diminuído a ativação dos fagócitos do pulmão e do fígado, por diminuição da transmigração das endotoxinas. Além disso, a glutamina pode ter exercido sua função diretamente sobre os fagócitos e células acessórias, aumentando a sua capacidade de reprodução e melhorando sua função.

## 5. CONCLUSÕES

A análise dos dados experimentais permitiu as seguintes conclusões:

1. A glutamina complementar à ração manteve a capacidade geral de apreensão do sistema monomorfonuclear de fagócitos, na colestase, dentro dos parâmetros dos ratos tomados como controle. Não houve a inibição funcional progressiva desse sistema, encontrada nos animais com icterícia, tratados com ração.

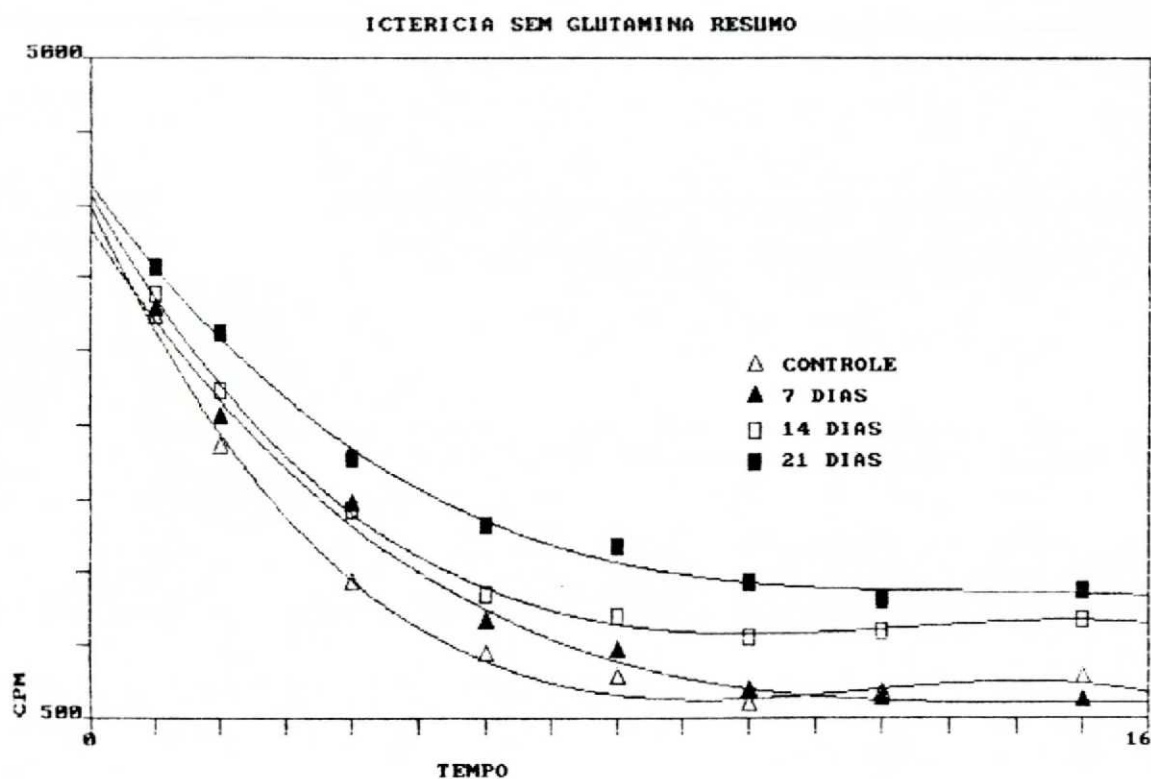
2. O sistema de fagócitos do fígado foi o maior responsável por esse comportamento. Foi menos eficaz quando estudado por unidade de seu peso, embora se tenha mantido a influência favorável da glutamina.

3. O pulmão, aparente órgão de compensação na fagocitose, sofreu a influência benéfica da glutamina. Nos estudos por unidade de seu peso, não se evidenciaram influências quer da colestase quer da glutamina. A atuação da dieta enriquecida foi favorável somente na última semana de colestase.

4. O linfonodo teve comportamento favorável, no grupo da glutamina.

5. A glutamina protegeu parcialmente a mucosa intestinal, nas primeiras semanas de colestase, e totalmente, na terceira.

## ANEXO-GRÁFICOS



**Fig 1a:** Resumo das regressões polinomiais das médias das cpm das amostras de sangue de 1 a 15 minutos. cpm = contagens por minuto/0,2 ml.

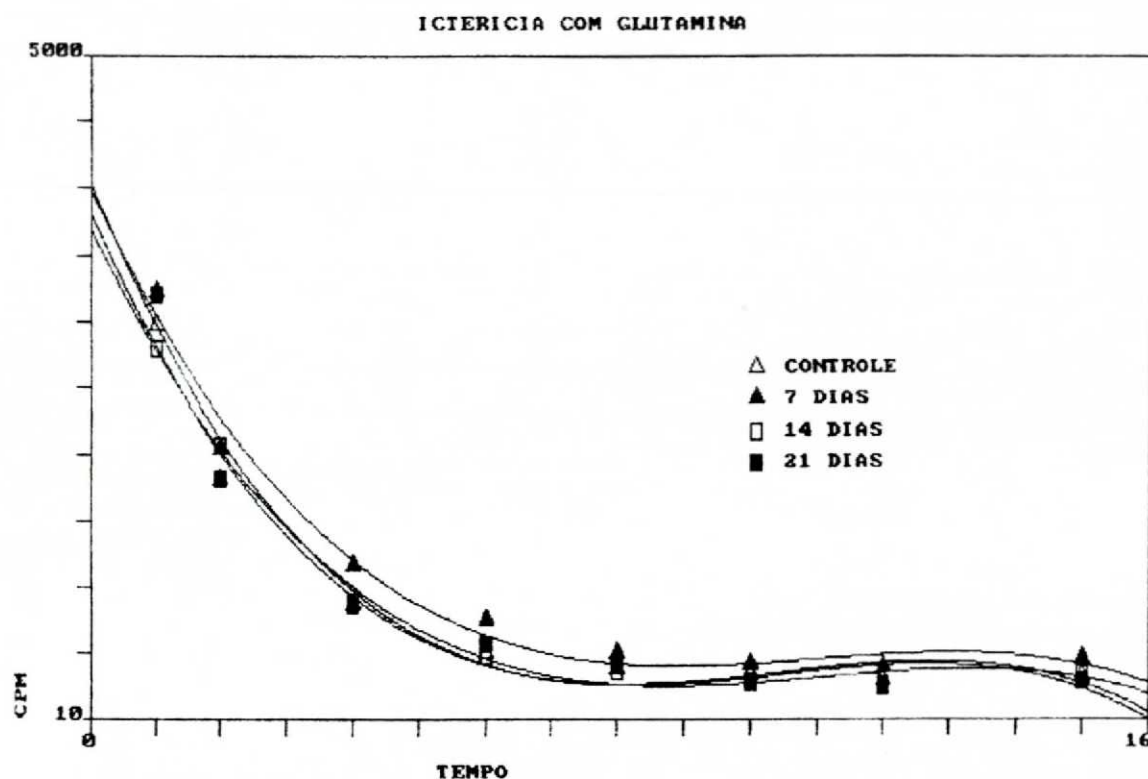
Regressão do controle:  $3976 - 14770 * X + 21080 * X^2 - 9607 * X^3$  ( $\delta^2 = 4485$ )

Regressão do 7º dia:  $3828 - 10720 * X + 11880 * X^2 - 4382 * X^3$  ( $\delta^2 = 6339$ )

Regressão do 14º dia:  $4062 - 12290 * X + 16430 * X^2 - 7059 * X^3$  ( $\delta^2 = 1127$ )

Regressão do 21º dia:  $4132 - 9756 * X + 11560 * X^2 - 4597 * X^3$  ( $\delta^2 = 2765$ )

$X = 0,0625 * t$



**Fig. 2a:** Resumo das regressões polinomiais das médias das cpm das amostras de sangue de 1 a 15 minutos. cpm = contagens por minuto/0,2 ml.

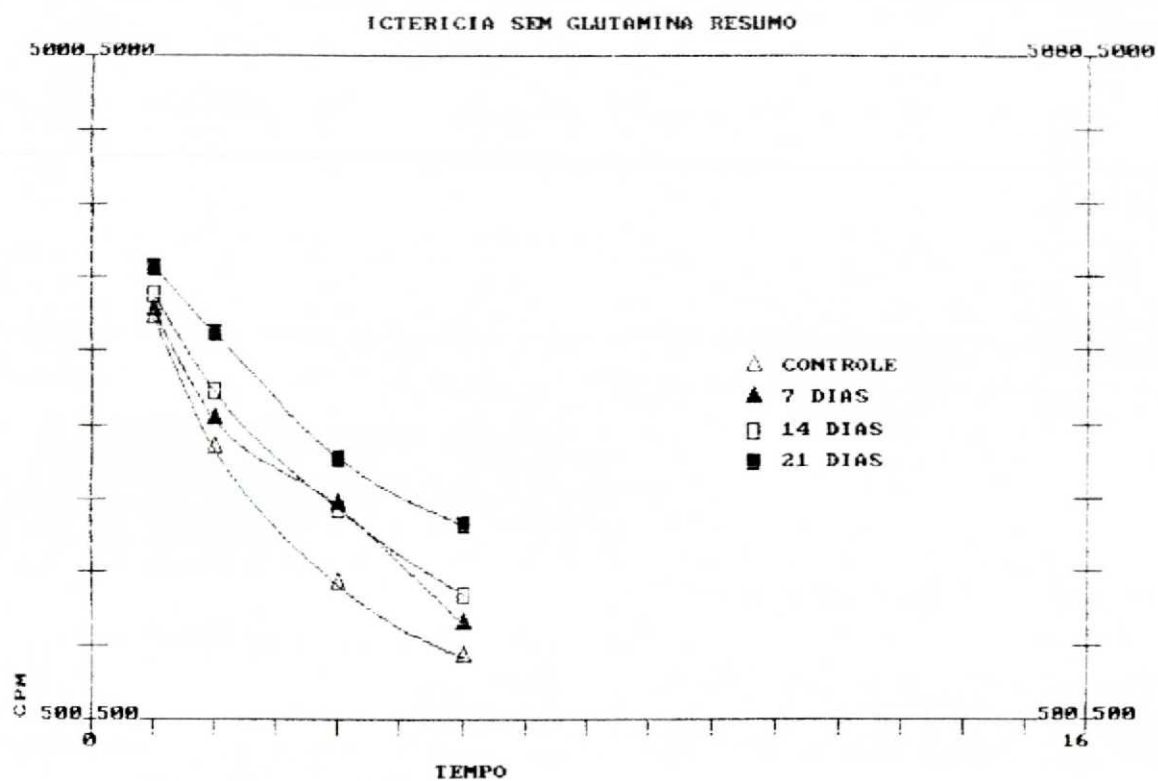
Regressão do controle:  $3812 - 17700 * X + 28570 * X^2 - 14620 * X^3$  ( $\delta^2 = 13710$ )

Regressão do 7º dia:  $3986 - 16560 * X + 24960 * X^2 - 12100 * X^3$  ( $\delta^2 = 14420$ )

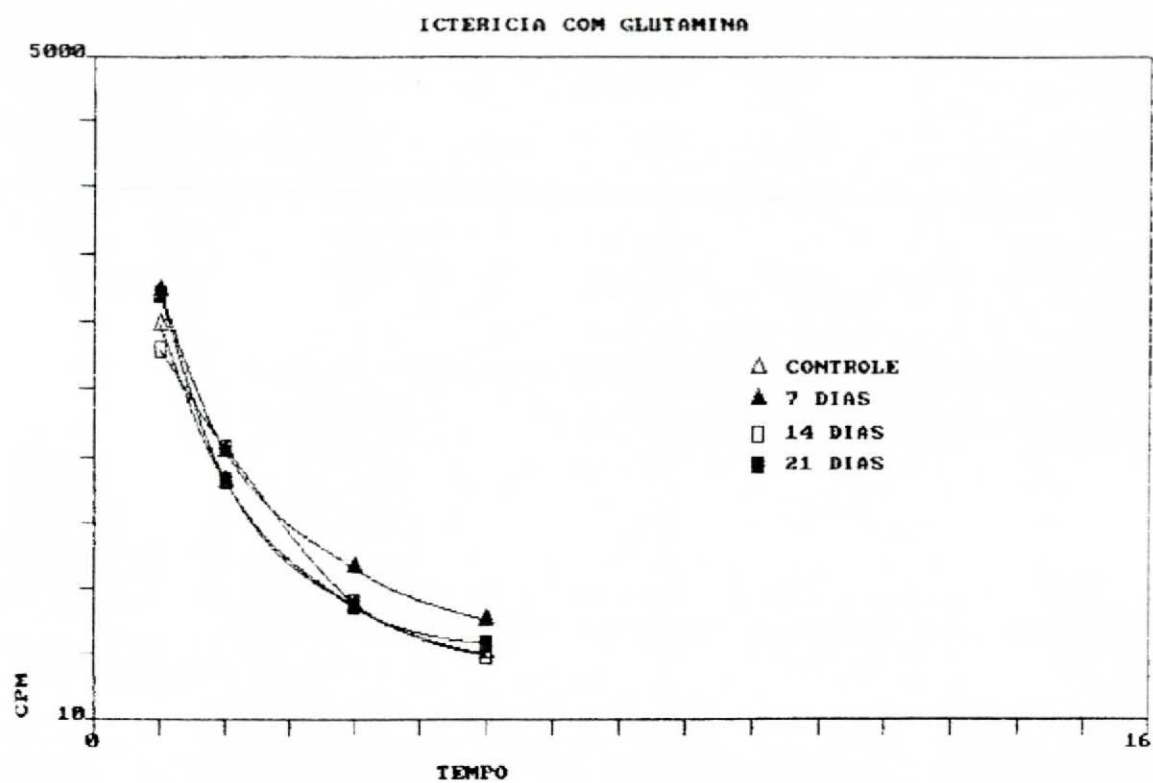
Regressão do 14º dia:  $3690 - 16010 * X + 24210 * X^2 - 11690 * X^3$  ( $\delta^2 = 4445$ )

Regressão do 21º dia:  $4030 - 18730 * X + 30110 * X^2 - 15400 * X^3$  ( $\delta^2 = 30360$ )

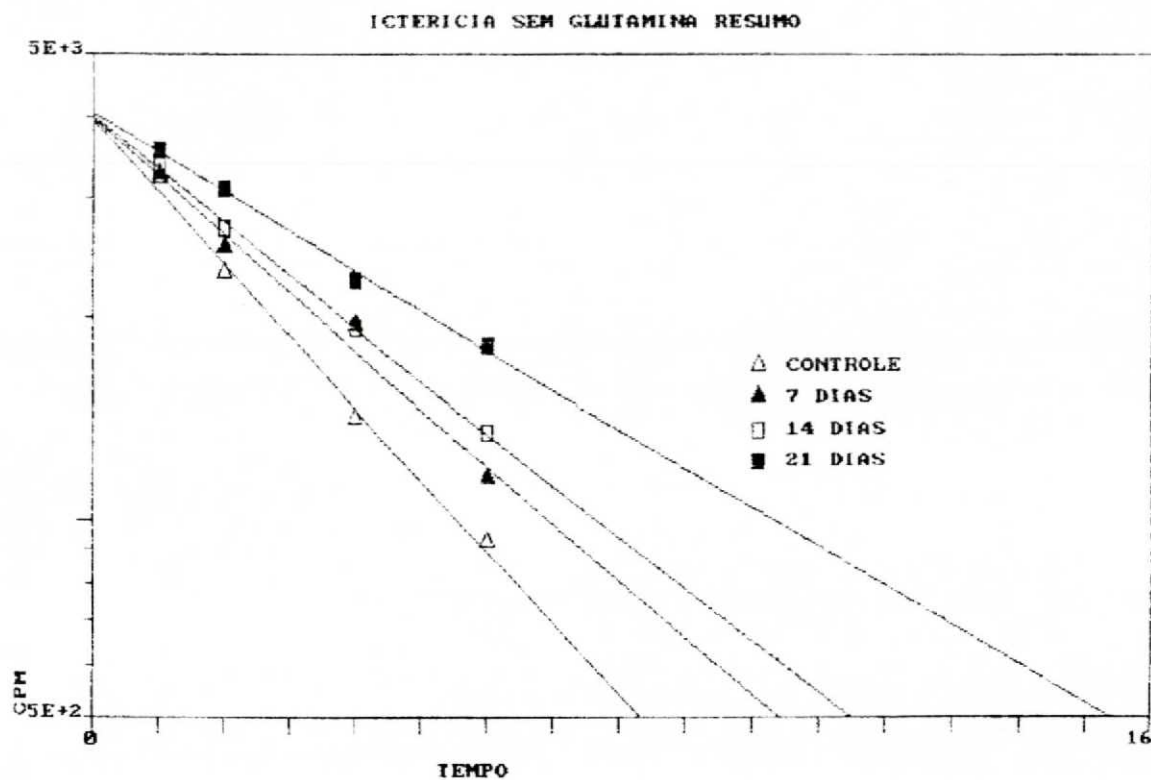
$X = 0,0625 * t$



**Fig. 3a:** Resumo das curvas das médias das cpm das amostras de sangue de 1 a 6 minutos. cpm = contagens por minuto/0,2 ml.



**Fig. 4a:** Resumo das curvas das médias das cpm das amostras de sangue de 1 a 6 minutos. cpm = contagens por minuto/0,2 ml.



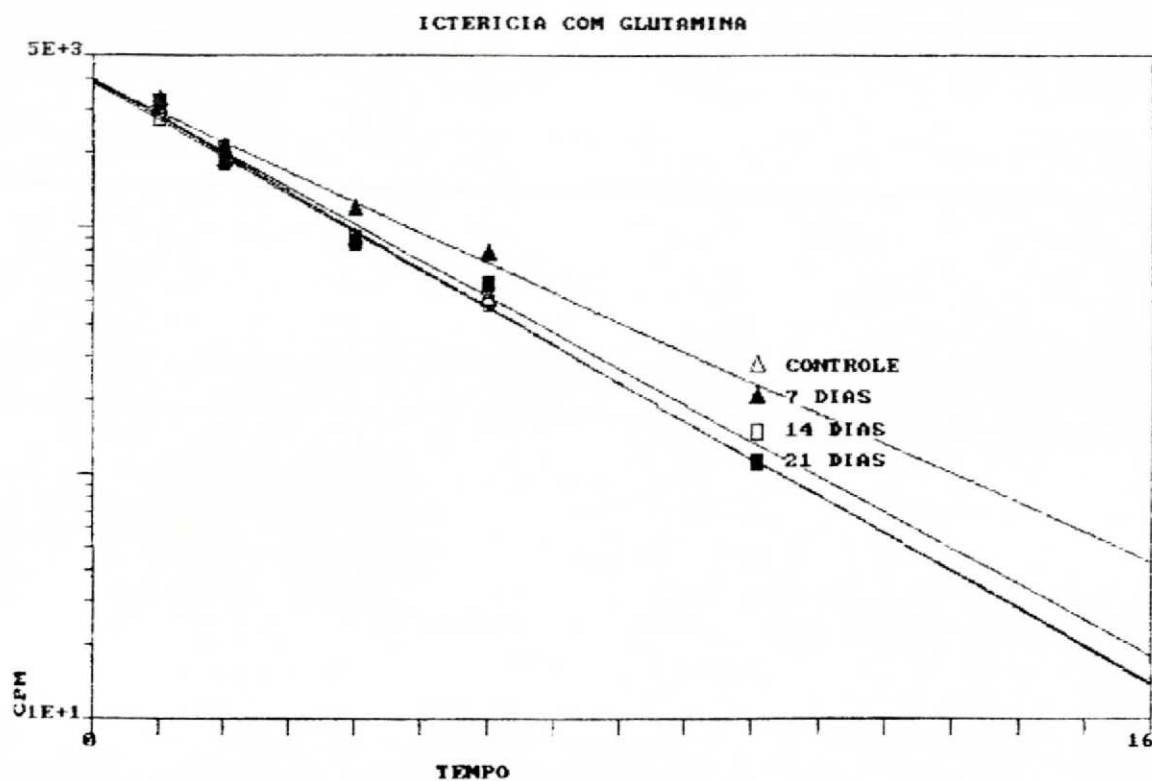
**Fig. 5a:** Resumo das regressões exponenciais das médias das cpm das amostras de sangue de 1 a 6 minutos. cpm = contagens por minuto/0,2 ml.

Regressão do controle:  $3,597 - 0,1077 * X$  ( $\delta^2 = 0,0002245$ )

Regressão do 7º dia:  $3,599 - 0,08656 * X$  ( $\delta^2 = 0,0005672$ )

Regressão do 14º dia:  $3,601 - 0,07856 * X$  ( $\delta^2 = 0,00003551$ )

Regressão do 21º dia:  $3,609 - 0,05921 * X$  ( $\delta^2 = 0,00006787$ )



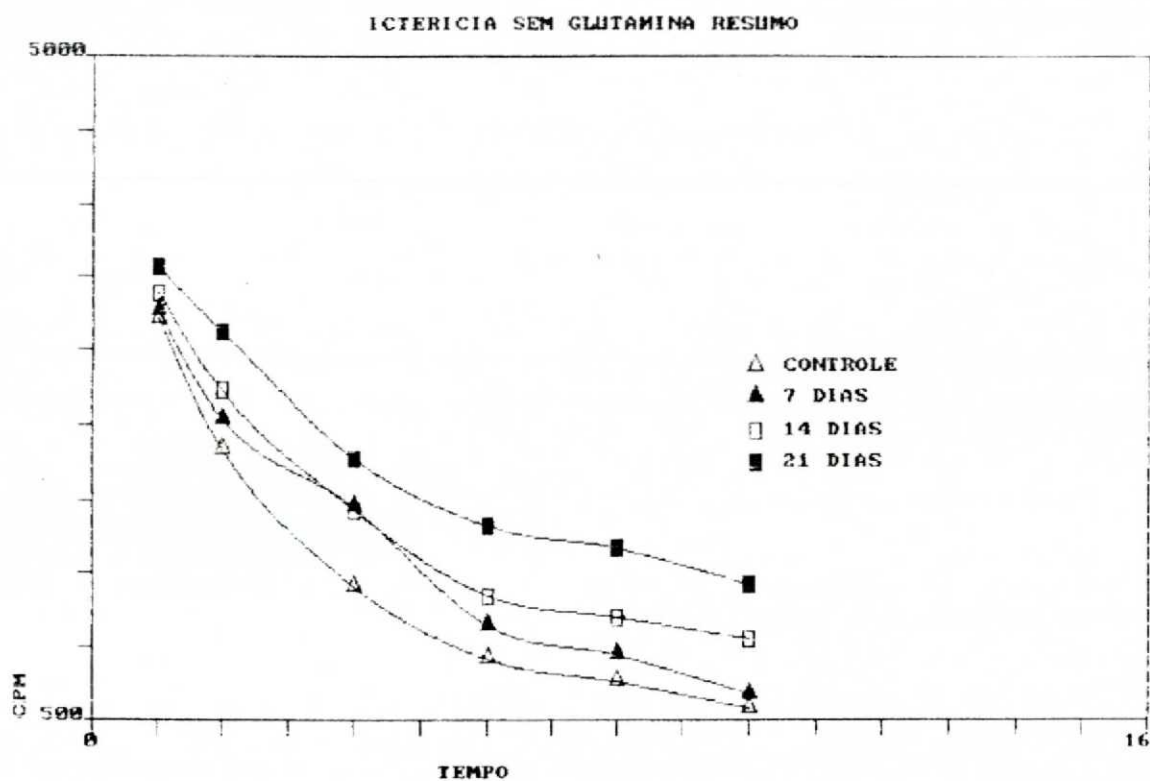
**Fig. 6a:** Resumo das regressões exponenciais das médias das cpm das amostras de sangue de 1 a 6 minutos. cpm = contagens por minuto/0,2 ml.

Regressão do controle:  $3,591 - 0,1529 * X$  ( $\delta^2 = 0,001001$ )

Regressão do 7º dia:  $3,590 - 0,1224 * X$  ( $\delta^2 = 0,001140$ )

Regressão do 14º dia:  $3,605 - 0,1544 * X$  ( $\delta^2 = 0,0004399$ )

Regressão do 21º dia:  $3,594 - 0,1461 * X$  ( $\delta^2 = 0,003085$ )



**Fig. 7a:** Resumo das curvas das médias das cpm das amostras de sangue de 1 a 10 minutos. cpm = contagens por minuto/0,2 ml.

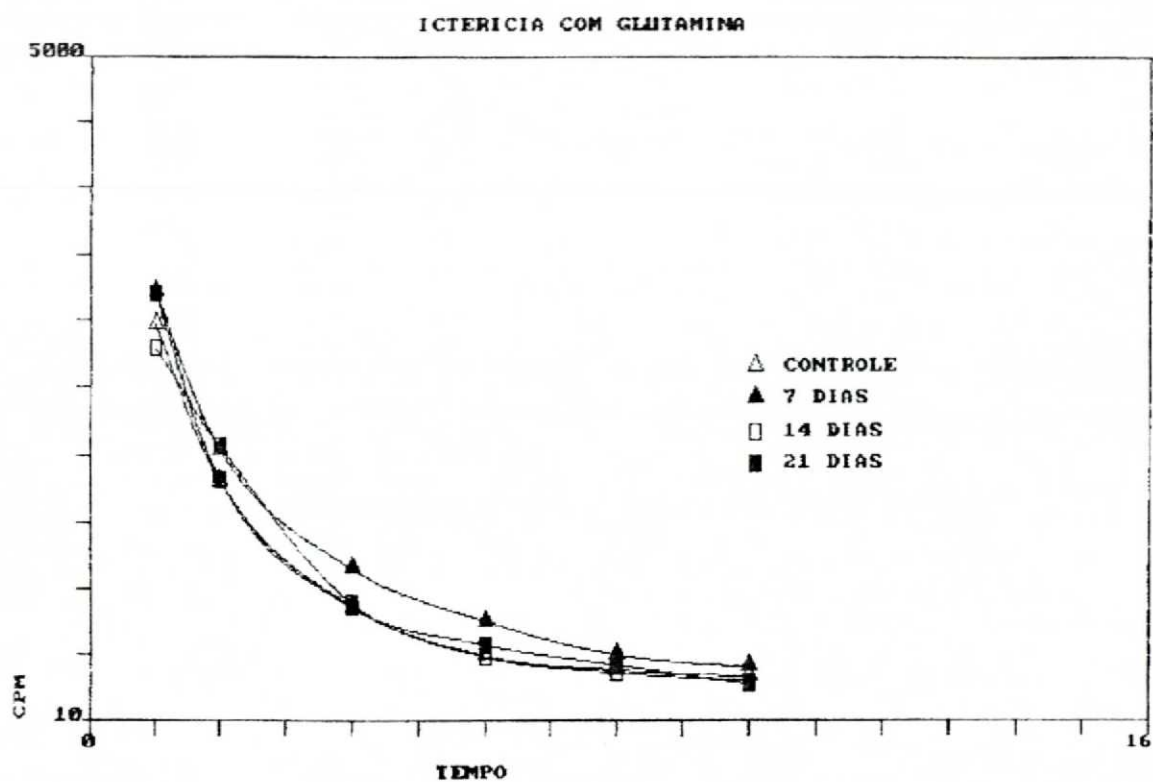
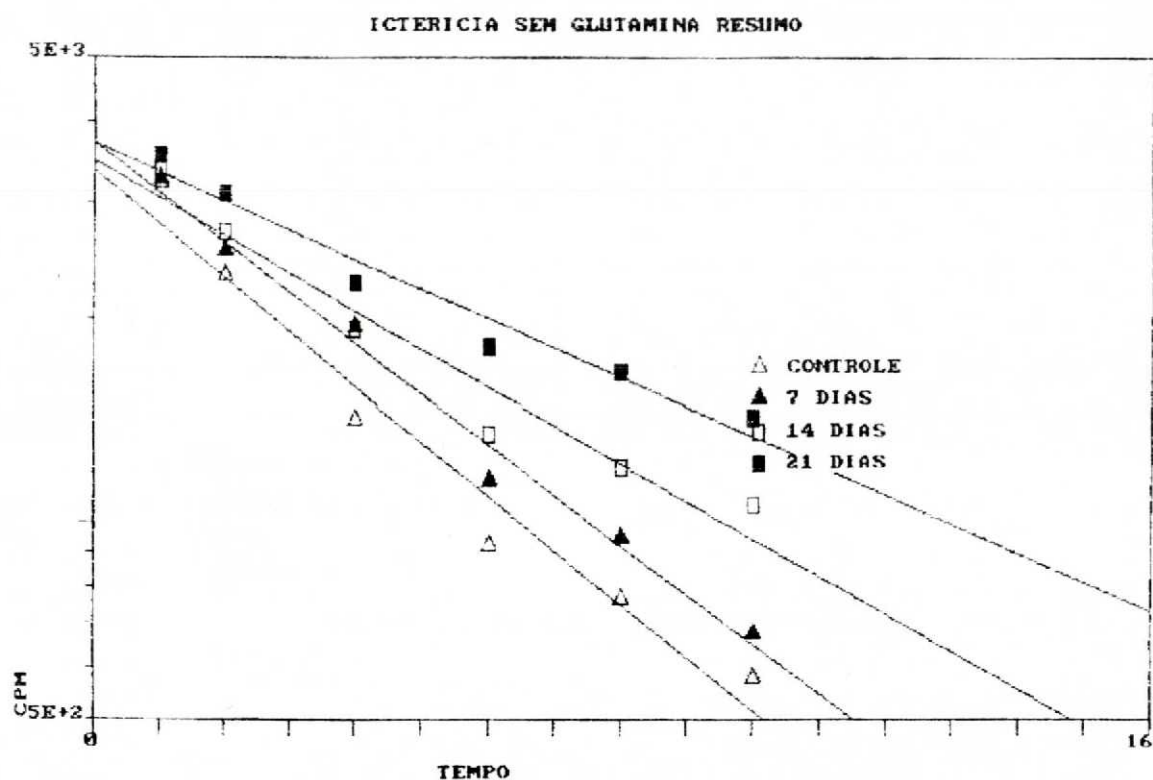


Fig. 8a: Resumo das curvas das médias das cpm das amostras de sangue de 1 a 10 minutos. cpm = contagens por minuto/0,2 ml.



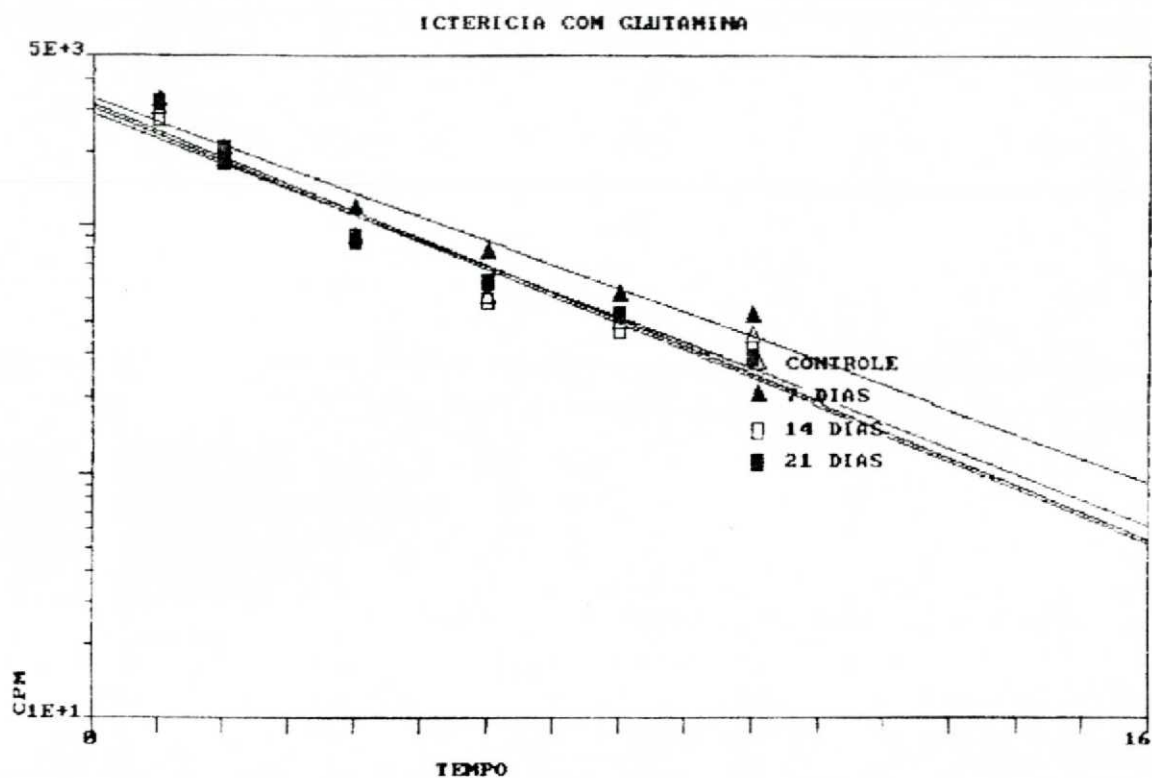
**Fig. 9a:** Resumo das regressões exponenciais das médias das cpm das amostras de sangue de 1 a 10 minutos. cpm = contagens por minuto/0,2 ml.

Regressão do controle:  $3,582 - 0,08175 * X$  ( $\delta^2 = 0,002390$ )

Regressão do 7º dia:  $3,570 - 0,07561 * X$  ( $\delta^2 = 0,0007680$ )

Regressão do 14º dia:  $3,542 - 0,05690 * X$  ( $\delta^2 = 0,001716$ )

Regressão do 21º dia:  $3,569 - 0,04414 * X$  ( $\delta^2 = 0,0007896$ )



**Fig. 10a:** Resumo das regressões exponenciais das médias das cpm das amostras de sangue de 1 a 10 minutos. cpm = contagens por minuto/0,2 ml.

Regressão do controle:  $3,547 - 0,1042 * X$  ( $\delta^2 = 0,009724$ )

Regressão do 7º dia:  $3,521 - 0,09771 * X$  ( $\delta^2 = 0,003471$ )

Regressão do 14º dia:  $3,485 - 0,1107 * X$  ( $\delta^2 = 0,007553$ )

Regressão do 21º dia:  $3,499 - 0,1106 * X$  ( $\delta^2 = 0,006184$ )

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H.; POBER, J.S. **Cellular and molecular immunology**. Philadelphia, W.B. Saunders, 1994, p. 319-336.
2. ALEXANDER, J.W.; BOYCE, S.T.; BABCOCK, G.F. et al. The process of microbial translocation. **Ann. Surg.**, v. 212, p. 496-510, 1990.
3. ALEXANDER, J.W.; GIANOTTI, L.; PYLES, T. et al. Distribution and survival of *Escherichia coli* translocating from the intestine after thermal injury. **Ann. Surg.**, v. 213, p. 558-566, 1991.
4. ALLER, M.A.; LORENTE, L.; ALONSO, S. et al. A model of cholestasis in the rat, using a microsurgical technique. **Scand. J. Gastroenterol.**, v. 28, p.10-14, 1993.
5. ALLISON, M.E.M.; PRENTICE, C.R.M.; KENNEDY, A.C. et al. Renal function and other factors in obstructive jaundice. **Br. J. Surg.**, v. 66, p.392-397, 1979.
6. ALMDAHL, S.M.; OSTERUD, B. Effect of antibiotics on gram-negative sepsis in the rat. **Acta Chir. Scand.**, v. 153, p. 283-286, 1987.
7. ALVERDY, J.C. Effects of glutamine-supplemented diets on immunology of the gut. **J. Parenter. Enter. Nutr.**, v. 14, (s. 4), p. 109S -113S, 1990.
8. ALVERDY, J.A.; AOYS, E.; WEIS-CARRINGTON, P. et al. The effect of glutamine-enriched TPN on gut immune cellularity. **J. Surg. Res.**, v. 52, p.34-38, 1992.
9. ANDERSSON, R.; BENGMARK, S. Influence of splenectomy, partial splenectomy and splenic artery ligation on *E. coli* sepsis in rats. **Acta Chir. Scand.**, v. 155, p.451-454, 1989.
10. ANDY Jr., O.J.; GROGAN, J.B.; GRISWOLD, J. A. et. al. Peritoneal neutrophil chemotaxis is impaired in biliary obstruction. **Am. Surg.**, v. 58, p.28-31, 1992.
11. ARAÚJO, I. D.; ANDRADE, M.A.C. Morbidade e mortalidade pós-operatórias em icterícia obstrutiva. **Arq. Bras. Med.**, v. 65, p. 267-269, 1991.
12. ARMSTRONG, C.P.; DIXON, J.M.; TAYLOR, T.V. et. al. Surgical experience of deeply jaundiced patients with bile duct obstruction. **Br. J. Surg.**, v. 71, p. 234-238, 1984.
13. ARTHUR, M.J.P.; KOWALSKI-SAUNDERS, P.; WRIGHT, R. Effect of endotoxins on release of reactive oxygen intermediates by rat hepatic macrophages. **Gastroenterology**, v. 95, p. 1588-1594, 1988.
14. ARTIGAS, G.V.; BRENNER, S.; COELHO, J.C.U. et. al. Icterícia em clínica cirúrgica. Dados obtidos com a revisão de 252 casos tratados. **R. Ass. Med. Brasil.**, v. 27, p.76-78, 1981.
15. ASHER, L. F.; GARRISON, R.N.; RATCLIFFE, D.J. et al. Endotoxin, cellular function and nutrient-blood flow. **Arch. Surg.**, v.118, p.441-444, 1983.
16. AUSTGEN, T.R.; CHEN, M.K.; MOORE, W. et. al. Endotoxin and renal glutamine metabolism. **Arch. Surg.**, v.126, p.23, 1991.
17. BAILEY, M.E. Endotoxin, bile salts and renal function in obstructive jaundice. **Br. J. Surg.**, v. 63, p. 774-778, 1976.
18. BAKKEVOLD, K.; KAMBELSTAD, B. Morbidity and mortality after radical and palliative pancreatic cancer surgery. Risk factors influencing the short-term results. **Ann. Surg.**, v. 217, p. 356-358, 1993.
19. BALL, S.K.; GROGAN, J.B.; COLLIER, B.J. et.al.. Bacterial phagocytosis in obstructive jaundice. A microbiologic and electron microscopic analysis. **Am. Surg.**, v. 57, p. 67-72, 1991.
20. BARKER, J.W.; DEITCH, E.A.; LI, M. et.al. Hemorrhagic shock induces bacterial translocation from the gut. **J. Trauma**, v. 28, p. 896-904, 1988.
21. BATT, R.M.; McLEAN, L.; RILEY, J.E. Response of the jejunal mucosa of dogs with aerobic and anaerobic bacterial overgrowth to antibiotic therapy. **Gut**, v. 29, p. 473-482, 1988.

22. BAUE, A.E. ; Nutrition and metabolism in sepsis and multisystem organ failure. **Surg. Clin. North Am.** v. 71, p. 549-565, 1991.
23. BEBBER, I.P.T. van ; LIENERS, C.F.J.; KOLDEWIJN, E.L. et al. Superoxide dismutase and catalase in an experimental model of multiple organ failure. **J. Surg. Res.**, v.52, p. 265-270, 1992.
24. BENACERRAF, B.; SEBESTYEN, M.M.; SCHLOSSMAN, S. A quantitative study of the kinetics of blood clearance of P32-labelled *Escherichia coli* and *Staphylococci* by reticulo-endothelial system. **J. Exp. Med.**, v. 110, p. 27-48, 1959.
25. BENOIT, J. N.; WOMACK, W. A.; HERNANDEZ, L. , et al. "Forward" and "backward" flow mechanisms of portal hypertension. **Gastroenterology** v.89, p. 1092 -1096, 1985.
26. BERLIN, N.I.; LAWRENCE, J.H.; GARTLAND, J. Blood volume in polycythemia as determined by P<sup>32</sup> labelled red blood cells. **Am J. Med.**, v. 9, p. 747-754, 1950.
27. BERGQVIST, L.; STRAND, S-E.; PERSSON, B.R.R. Particle sizing and biokinetics of interstitial lymphoscintigraphic agents. **Sem. Nucl. Med.**, v. 13, p.9-19, 1983.
28. BETTIN, K.; O'CONNOR ALLEN, M.; GERDING, D.N. et al. *Pseudomonas aeruginosa*: a simple method of labeling live bacteria with a gamma-emitting radioisotope. **Eur. J. Nucl. Med.**, v. 12, p. 277-279, 1986.
29. BEUTLER, B.; KROCHIN, N.; MILSARK, I.W. et al. Control of cachectin (tumor necrosis factor) synthesis. **Science**, v. 232, p. 977-980, 1986.
30. BIOZZI, G.; BENACERRAF, B.; HALPERN, B.N. Quantitative study of the granuloplectic activity of the reticuloendothelial system. II. A study of the kinetics of the granuloplectic activity of the RES in relation to the dose of carbon injected. Relationship between the weight of the organs and their activity. **Br. J. Exp. Pathol.**, v. 34, p.441-457, 1953.
31. BIOZZI, G.; HOWARD, J.G.; HALPERN, B.N. et al.. The kinetics of blood clearance of isotopically labelled *Salmonella enteritidis* by reticulo-endothelial system in mice. **Immunology**, v. 3, p. 74-89, 1960.
32. BLAMEY, S. L.; FEARON, K. C. H.; GILMOUR, W. H. et al.. Prediction of risk in biliary surgery. **Br. J. Surg.**, v. 70, p. 535-538, 1983.
33. BLANCKAERT, N.; FEVERY, J. Physiology and pathophysiology of bilirubin metabolism. In: ZAKIM, D.; BOYER, T.D. eds. **Hepatology**. 2.ed. v.1. Philadelphia, W.B. Saunders, 1990, p. 254-302.
34. BLUMGART, L. H.; KELLY, C.J.; BENJAMIN, I.S. Benign bile duct stricture following colecystectomy - critical factors in management. **J. Br. Surg.**, v. 71, p.836-843, 1984 .
35. BONZON, A.; ROSENBERG, M. ; GALL, D. et al.. Systemic hypotension and decreased pressor response in dogs with chronic bile duct ligation. **Hepatology** , v. 6, p. 595-600, 1986.
36. BOSCH, J.; ENRIQUEZ, R.; GROSZMANN, R. Chronic bile duct ligation in the dog: hemodynamic characterization of a portal hypertensive model. **Hepatology**, v. 3, p. 1002, 1983.
37. BOSCH, R. P. van den; SCHELLING, G.P.van der; KLINKENBIJL, J. H. G. et al. Guidelines for the application of surgery and endoprotheses in palliation of obstructive jaundice in advanced cancer of the pancreas. **Ann. Surg.**, v. 219, p. 18-24, 1994.
38. BRAND, K.; FEKL, W.; HINTZENSTERN, J. et al. Metabolism of glutamine in lymphocytes. **Metabolism**, v. 38 (sup. 1), p. 29-33, 1989.
39. BRANDABUR, J.J.; KOZAREK, R.A.; BALL, T.J. et al. Nonoperative versus operative treatment of obstructive jaundice in pancreatic cancer: cost and survival analysis. **Am. J. Gastroenterol.**, v. 83, p. 1132-1139, 1988..
40. BROWN, M.G.; Campbell, G.R.; ROWLANDS, B.J. Glutamine-enhanced enteral diet improves nitrogen balance without increasing portal ammonia. **Br. J. Surg** , v. 78, p.1305-1306, 1991.
41. BRYNSKOV, J.; NIELSEN, O.H.; AHNFELT-RONNE, I. et al. Cytokines in inflammatory bowel disease. **Scand.J.Gastroenterol.**, v.27, p.897-906, 1992.
42. BULUS, N.; CERSOSIMO, E.; GHISHAN, F. et al. Physiologic importance of glutamine. **Metabolism**, v. 38, p. 1-5, 1989.

43. BURKE, D.J.; ALVERDY, J.C.; AOYS, E. et al. Glutamine-supplemented total parenteral nutrition improves gut immune function. **Arch. Surg.**, v. 124, p. 1396-1399, 1989.
44. CAHILL, C.J. Prevention of postoperative renal failure in patients with obstructive jaundice - the role of bile salts. **Br. J. Surg.**, v. 70, p. 590-595, 1983.
45. CAHILL, C.J.; PAIN, J.A.; BAILEY, M.E. Bile salts, endotoxin and renal function in obstructive jaundice. **Surg. Gynecol. Obstet.**, v. 165, p. 205-210, 1987.
46. CAHILL, C.J.; PAIN, J.A.; BAILEY, M.E. Bile salts, endotoxin and renal function in obstructive jaundice. **Surg. Gynecol. Obstet.**, v. 165, p. 519-522, 1987.
47. CAMPOS, A.C.L. **Translocação bacteriana em ratos recebendo nutrição parenteral**. Curitiba 1992. Tese doutorado. Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.
48. CAMPOS, F.G.; MUCERINO, D.R.; WAITZBERG, A.F. et al. Efeitos protetores da glutamina e dieta elementar na enterocolite actínica aguda. **Rev. Assoc. Med. Brasil.**, v. 40, p. 143-149, 1994.
49. CANALESE, J.; GOVE, C.D.; GIMSON, A.E.S. et al. Reticuloendothelial system and hepatocyte function in fulminant hepatic failure. **Gut**, v. 23, p. 265-269, 1982.
50. CARDOSO, V.; PIMENTA, A.; FONSECA, J.C. et al. The effect of cholestasis on hepatic clearance of bacteria. **World J. Surg.**, v. 6, p. 330-334, 1982.
51. CARDOZO, C.; EDELMAN, J.; LESSER, M. Lipopolysaccharide-induced stimulation of alveolar macrophage opsonin-independent phagocytosis. **J. Surg. Res.**, v. 53, p. 170-174.
52. CARLSON, E.; ZUKOSKI, C. F.; CAMPBELL, J. et al. Morphologic, biophysical and biochemical consequences of ligation of the common biliary duct in the dog. **Am. J. Pathol.**, v.86, p. 301-312, 1977.
53. CHEN, K.; OKUMA, T.; OKAMURA, K. et al. Glutamine-supplemented parenteral nutrition improves gut mucosa integrity and function in endotoxemic rats. **J. Parenter. Enter. Nutr.**, v. 18, p. 167-171, 1994.
54. CHESLYN-CURTIS, S.; ALDRIDGE, M.C.; BIGLIN, J.E.J. et al. Effect of splenectomy on Gram-negative bacterial clearance in the presence and absence of sepsis. **Br. J. Surg.**, v. 75, p. 177-180, 1988.
55. CLAVIEN, P-A; HARVEY, R.C.; SANABRIA, J.R. et al. Lymphocyte adherence in the reperfused rat liver. **Hepatology**, v. 17, p. 131-142, 1993.
56. CLEMENTS, W.D.B.; DIAMOND, T.; McCRORY, D.C. et al. Biliary drainage in obstructive jaundice: experimental and clinical aspects. **Br. J. Surg.**, v. 80, p. 834-842, 1993.
57. COLLIER, D.S.J.; PAIN, J.A.; WIGHT, D.G.D. et al. The Kupffer cell in experimental extrahepatic cholestasis in the rat - a light microscopy, immunohistochemical and electron microscopy study. **J. Pathol.**, v. 150, p. 187-194, 1986.
58. CRESTANI, B.; CORNILLET, P.; DEHOUX, M. et al. Alveolar type II epithelial cells produce interleukin-6 in vitro and in vivo. **J. Clin. Invest.**, v. 94, p.731-740, 1994.
59. CRISSINGER, K.D.; KVIETYS, P.R.; GRANGER, D.N. Pathophysiology of gastrointestinal mucosal permeability. **J. Int. Med.**, v. 228 (sup. 1), p.145-154, 1990.
60. CURRAN, R.D.; BILLIAR, T. R.; KISPERS, P.H. et al. Hepatocytes enhance Kupffer cell-mediated tumor cell cytostasis in vitro. **Surgery**, v. 106, p. 126-132, 1989.
61. DAHN, M.S.; LANGE, P.; LOBDELL, K. et al. Splanchnic and total body oxygen consumption differences in septic and injured patients. **Surgery**, v.101, p. 69-80, 1987.
62. DEITCH, E.A.; BERG, R.D. Endotoxin but not malnutrition promotes bacterial translocation of the gut flora in burned mice. **J. Trauma**, v. 27, p. 161-166, 1987.
63. DEITCH, E.A.; BERG, R.; SPECIAN, R. Endotoxin promotes the translocation of bacteria from the gut. **Arch. Surg.**, v. 122, p. 185-190, 1987.
64. DEITCH, E.A.; BRIDGES, R.M. Effect of stress and trauma translocation from the gut. **J. Surg. Res.**, v. 42, p. 536-542, 1987.

65. DEITCH, E.A.; MA, L.; MA, W.J. et al. Inhibition of endotoxin-induced bacterial translocation in mice. **J. Clin. Invest.**, v. 84, p. 36-42, 1989.
66. DEITCH, E.A.; MA, W.J.; MA, L., et al. Endotoxin induced bacterial translocation. **Surgery**, v. 106, p. 292-299, 1989.
67. DEITCH, E.A.; MAEJIMA, K.; BERG, R. Effect of oral antibiotics and bacterial overgrowth on the translocation of the GI microflora in burned rats. **J. Trauma**, v. 25, p. 385-392, 1985.
68. DEITCH, E.A.; MORRISON, J.; BERG, R. et al. Effect of hemorrhagic shock on bacterial translocation, intestinal morphology, and intestinal permeability in conventional and antibiotic-decontaminated rats. **Crit. Care Med.**, v. 18, p. 529-536, 1990.
69. DEITCH, E.A.; SITTING, K.; LI, M. et al. Obstructive jaundice promotes bacterial translocation from the gut. **Am. J. Surg.**, v. 159, p. 79-84, 1990.
70. DEITCH, E.A.; TAYLOR, M.; GRISHAM, M. et al. Endotoxin induces bacterial translocation and increases xanthine oxidase activity. **J. Trauma**, v. 29, p. 1679-1683, 1989.
71. DEVENTER, S. J. H. van.; CATE, J. W.; TYTGAT, G. N. J. Intestinal endotoxemia. **Gastroenterology**, v. 94, p. 825-831, 1988.
72. DIAMOD, T.; DOLAN, S.; THOPSON, R.L.E. et al. Development and reversal of endotoxemia and endotoxin related death in obstructive jaundice. **Surgery**, v. 108, p. 370-375, 1990.
73. DINNEEN, P. The importance of the route of infection in experimental biliary tract obstruction. **Surg. Gynecol. Obst.**, v. 119, p. 1001-1008, 1964.
74. DING, J.W.; ANDERSSON, R.; HULTBERG, B. et al. Modification of reticuloendothelial function by muramyl dipeptide-encapsulated liposomes in jaundiced rats treated with biliary decompression. **Scand. J. Gastroenterol.**, v. 28, p. 53-62, 1993.
75. DING, J.W.; ANDERSSON, R.; NORGRÉN, L. et al. The influence of biliary obstruction and sepsis on reticuloendothelial function in rats. **Eur. J. Surg.**, v. 158, p. 157-164, 1992.
76. DING, J.W.; ANDERSSON, R.; STENRAM, U et al. Effect of biliary decompression on reticuloendothelial function in jaundice rats. **Br. J. Surg.**, v. 79, p. 648-652, 1992.
77. DIXON, J.M.; ARMSTRONG, C.P.; DAVIES, G.C. Preoperative biliary drainage. **Br. J. Surg.** v. 73, p. 716, 1986.
78. DIXON, J.M.; ARMSTRONG, C.P.; DUFFY, S.W. et al. Factors affecting morbidity and mortality after surgery for obstructive jaundice: a review of 373 patients. **Gut**, v. 24, p. 845-852, 1983.
79. DOBSON, E.L.; WARNER, G.F.; FINNEY, C.R. et al. The measurement of liver circulation by means of the colloid disappearance rate. **Circulation**, v. 7, p. 690-695, 1953.
80. DRIVAS, G.; JAMES, O.; WARDLE, N. Study of reticuloendothelial phagocytic capacity in patients with cholestasis. **Br. Med. J.**, v. 1, p. 1568-1569, 1976.
81. DUDRICK, P.S.; AUSTGEN, T.A.; CHEN, M.K. et al. Prefeeding with glutamine preserves intestinal glutaminase activity in the endotoxin-treated rat. **J. Parenter. Enter. Nutr.**, v. 16, p. 19S, 1992.
82. DUDRICK, P.S.; SALLOUM, R.M.; POPELAND, E.M. III. et al. The early response of the jejunal brush border glutamine transporter to endotoxemia. **J. Surg. Res.**, v. 52, p. 372-377, 1992.
83. DUDRICK, P.S.; SOUBA, W.W. Amino acids in surgical nutrition. Principles and practice. **Surg. Clin. North. Am.**, v. 71, p. 459-476, 1991.
84. DUNN, D.L.; BARKE, R.A.; EWALD, D.C. et al. Macrophages and translymphatic absorption represent the first line of host defense of the peritoneal cavity. **Arch. Surg.**, v. 122, p. 105-110, 1987.
85. DUNN, C.W.; HORTON, J.W.; WALKER, P.B. Muramyl dipeptide improves mononuclear phagocyte system function in obstructive jaundice. **J. Surg. Res.**, v. 48, p.249-253, 1990.
86. EDMISTON Jr., C.E.; CONDON, R.E. Bacterial translocation. **Surg. Gynecol. Obst.** v. 173, p. 73-83, 1991.

87. ERLINGER, S. Secreción de bñlis. In: BLUMGARTH, L.H. **Cirurgia del hígado y de las vías bñliares**. Buenos Aires, Médica Panamericana, 1990. p.104-111.
88. FEINGOLD, K.R.; GRUNFELD, C. Tumor necrosis factor alpha stimulates hepatic lipogenesis in the rat in vivo **J. Clin. Invest.**, v. 80, p. 290, 1993.
89. FELL, P.J.; STEVENS, M.T. Pharmacokinetics- uses and abuses. **Europ. J. Clin. Pharmacol.**, v. 8, p. 241-248, 1975.
90. FILLIBEN, J.J. The probability plot correlation coefficient test for normality. **Technometrics**, v. 17, p. 111-117, 1975.
91. FINK, M.P.; COHN, S.M.; LEE, P.C. et al. Effect of lipopolysaccharide on intestinal intramucosal hydrogen ion concentration in pigs. **Crit. Care. Med.**, v. 17, p. 641-646, 1989.
92. FLETCHER, M.S.; WESTWICK, J.; KAKKAR, V.V. Endotoxin, prostaglandins and renal fibrin deposition in obstructive jaundice. **Br. J. Surg.**, v. 69, p. 625-629, 1982.
93. FLYNN Jr., W.; GOSCHE, J.R.; GARRISON, R.N. Intestinal blood flow is restored with glutamine or glucose suffusion after hemorrhage. **J. Surg. Res.** v. 52, p. 499-504, 1992.
94. FOSCHI, D.; CAVAGNA, G.; CALLIONI, F. et al. Hyperalimentation of jaundiced patients on percutaneous transhepatic biliary drainage. **Br. J. Surg.**, v. 73, p. 716-719, 1986.
95. FRANCO, D.; GIGOU, M.; SZEKELY, A.M. et al. Portal hypertension after bile duct obstruction. **Arch. Surg.**, v.114, p.1064-1067, 1979.
96. GAETANO, A.; CASTAGNETO, M.; MINGRONE, G. et al. Kinetics of medium-chain triglycerides and free fatty acids in healthy volunteers and surgically stressed patients. **J. Parent. Ent. Nutr.**, v. 18, p. 208-213, 1994.
97. GAVIN, T.J.; FABIAN, T.C.; WILSON, J.D., et al. Splanchnic and systemic hemodynamic responses to portal vein endotoxin after resuscitation from hemorrhagic shock. **Surgery**, v. 115, p. 389-398, 1992
98. GEBHARDT, R.; REICHEN, J. Changes in distribution and activity of glutamine synthetase in carbon tetrachloride-induced cirrhosis in the rat. **Hepatology**, v. 78, p. 1305-1306, 1991.
99. GERKIN, T.M.; OLDHAM, K.T.; GUICE, K.S. et al. Intestinal ischemia-reperfusion injury causes pulmonary endothelial cel ATP depletion. **Ann. Surg.**, v. 217, p. 48-56, 1993.
100. GIGOT, J.F.; LEESE, T.; DEREME, T. et al. Acute colangitis. Multivariate analysis of risk factors. **Ann. Surg.**, v. 209, p.435-438, 1989.
101. GOLLAHER, C.J.; FECHNER, K.; KARLSTAD, M. et al. The effect of increasing levels of fishoil-containing structured triglycerides on protein metabolism in parenterally fed rats stressed by burn plus endotoxin. **J. Parenter. Enter. Nutr.** v. 17, p. 247-253, 1993.
102. GORIS, R.J.A.; BOEKHOLTZ, W.K.F.; BEBBER, I.P.T. van, et al. Multiple-organ failure and sepsis without bacteria. **Arch. Surg.**, v. 121, p. 897-901, 1986.
103. GORIS, R.J.A.; BOEKHORST, T.P.O.; NUYTINCK, J.K.S. et al. Multiple-organ failure. Generalized autodestructive inflammation? **Arch. Surg.**, v. 120, p.1109-1115, 1985.
104. GOUMA, D.J.; COELHO, J.C.U.; FISCHER, J.D. et al. Endotoxemia after the relief of biliary obstruction by internal and external drainage in rats. **Am. J. Surg.**, v. 151, p. 476-479, 1986.
105. GOUMA, D.J.; COELHO, J.C.U.; SCHLEGEL, J.F. et al. The effect of preoperative internal and external biliary drainage on mortality in jaundiced rats. **Arch. Surg.**, v. 122, p. 731-734, 1987.
106. GOUMA, D.J.;ROUGHNEEN, P.T.; KUMAR, S. et al. Changes in nutritional status associated with obstructive jaundice and biliary drainage in rats. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 44, p. 362-369, 1986.
107. GREEN, J.; BEYAR, R.; BOMZON, L. et al. Jaundice, the circulation and the kidney. **Nephron**, v. 37, p. 142-152, 1984.
108. GREEN, J.; BEYAR, R.; SIDEMAN, S. et al. The "jaundice heart ": a possible explanation for postoperative shock in obstructive jaundice. **Surgery**, v. 100, p. 14-19, 1986.

109. GREVE, J.W.; GOUMA, D.J.; SOETERS, P.B. et al. Suppression of cellular immunity in obstructive jaundice is caused by endotoxins: a study with germ-free rats. **Gastroenterology**, v. 98, p. 478-485, 1990.
110. HAGLUND, U.; BULKLEY, G.B.; GRANGER, D.E. On the pathophysiology of intestinal ischemia injury. **Acta Chir. Scand.** v. 153, p. 321-324, 1987.
111. HAGLUND, U.; HULTEN, L.; AHREN, C. et al. Mucosal lesions in the human small intestine in shock. **Gut**, v. 16, p. 979-984, 1975.
112. HARTMANN, F.; PLAUTH, M. Intestinal glutamine metabolism. **Metabolism**, v. 38, p. 18-24, 1989.
113. HARWARD, T.R.S.; COE, D.; SOUBA, W.W. et al. Glutamine preserves gut glutathione levels during intestinal ischemia/reperfusion. **J. Surg. Res.** v. 56, p. 351-355, 1994.
114. HÄUSSINGER, D. Glutamine metabolism in the liver. **Metabolism**, v. 38 (sup. 1), p. 14-17, 1989.
115. HÄUSSINGER, D. Hepatocyte heterogeneity in glutamine and ammonia metabolism and the role of an intercellular glutamine cycle during ureogenesis in perfused rat liver. **Eur. J. Biochem.**, v. 133, p. 269-275, 1983.
116. HIGASHIGUCHI, T.; HASSELGREEN, P-O; WAGNER, K. et al. Effect of glutamine on protein synthesis in isolated intestinal epithelial cells. **J. Parenter. Enter. Nutr.**, v. 17, p. 307-314, 1993.
117. HOLMAN Jr., J.M.; RIKKERS, L.F. Biliary obstruction and host defense failure. **J. Surg. Res.**, v. 32, p. 208-213, 1982.
118. HOLMBERG, J. T.; BERGQVIST, L.; HULTBERG, B. et al. Radiolabelled colloid uptake distribution and pulmonary contents and localization of lysosomal enzymes in cholestatic rats. **Scand. J. Gastroenterol.**, v.21, p. 291-299, 1986.
119. HOLMBERG, J.T.; HEDERSTRÖM, E.; IHSE, I. A method to prevent recanalization of the transected bile duct in the rat. **Scand. J. Gastroenterol.**, v. 20, p. 428-432, 1985.
120. HUGHES, C.A.; DOWLING, R.H. Speed of onset of adaptive mucosal hypoplasia and hypofunction on the intestine of parenterally fed rats. **Clin. Sci.**, v.59 p.317-327, 1980.
121. HUNT, D.R. The identification of risk factors and their application to management of obstructive jaundice. **Aust. N. Z. J. Surg.**, v. 50, p. 476-480, 1980.
122. HUNT, D.R.; ALLISON, M.E.M.; PRENTICE, C.R.M. et al. Endotoxemia, disturbance of coagulation, and obstructive jaundice. **Am. J. Surg.**, v. 144, p. 325-329, 1982.
123. HYDE, R.M. **Immunology**. 2.ed. Philadelphia, Harwal, 1992. p. 67-97.
124. IIO, M.; WAGNER, H.N.; SCHEFFEL, U. et al. Studies of the reticuloendothelial system (RES). I. Measurement of the phagocytic capacity of the RES in man and dog. **J. Clin. Invest.**, v. 42, p. 417-426, 1963.
125. INGOLBY, C.J.H.; The value of polymyxin B in endotoxemia due to experimental obstructive jaundice and mesenteric ischemia. **Br. J. Surg.**, v. 67, p. 565-567, 1980.
126. INGOLDBY, C.J.H.; McPHERSON, G.A.D.; BLUMGART, L.H. Endotoxemia in human obstructive jaundice. Effect of Polymyxin B. **Am. J. Surg.**, v. 147, p. 766-771, 1984.
127. INOUE, Y.; GRANT, J.P.; SNYDER, P.J. Effect of glutamine-supplemented intravenous nutrition and survival after *Escherichia Coli*- induced peritonitis. **J. Parenter. Enter. Nutr.**, v. 17, p. 41-46, 1993.
128. INOUE, Y.; PACITTI, A.J.; SOUBA, W.W. Endotoxin increases hepatic glutamine transport activity. **J. Surg. Res.**, v. 54, p. 393-400, 1993.
129. JEEJEBHOY, K.N. Nutrient requirements and nutrient deficiencies in gastrointestinal diseases. In: SLEISENGER, M.H.; FORDTRAN, J.S. Eds. **Gastrointestinal disease**, v.2. Philadelphia, Saunders 1993. p 2017-2047.
130. JOHNS, H.E.; CUNNINGHAM, J.R. **The physics of radiology**. 3.ed. Springfield, C.C. Thomas, 1974. p. 59-102..

131. JONES, A.H. Anatomy of the normal liver. In: ZAKIM, D.; BOYER, T.D. eds. **Hepatology**. 2.ed. v.1. Philadelphia, W.B. Saunders, 1990. p. 3-30.
132. KATZ, S.; GROSSFELD, J.L.; GROSS, K. et al. Impaired bacterial clearance and trapping in obstructive jaundice. **Ann. Surg.**, v. 199, p. 14-20, 1984.
133. KATZ, S.; YANG, R.; RODEFELD, M.J. et al. Impaired hepatic bacterial clearance is reversed by surgical relief of obstructive jaundice. **J. Pediatr. Surg.**, v. 26, p. 401-405, 1991.
134. KEANE, R.M.; GADACZ, T.R.; MUNSTER, A.M. et al. Impairment of human lymphocyte function by bile salts. **Surgery**, v. 95, p. 439-443, 1984.
135. KOIKE, K.; MOORE, F.A.; MOORE, E.E. et al. Endotoxin after gut ischemia/reperfusion causes irreversible lung injury. **J. Surg Res.**, v. 52, p. 656-662, 1992.
136. KONO, K.; OHNISHI, K.; OMATA, M. et al. Experimental portal fibrosis produced by intraportal injection of killed nonpathogenic *Escherichia coli* in rabbits. **Gastroenterology** v. 94, p. 787-796, 1988.
137. KOTZE, L.M.S. **Aspectos anatomopatológicos da mucosa do jejuno proximal e do pâncreas de ratos em nutrição parenteral, submetidos ou não à oclusão do íleo terminal**. São Paulo, 1994. Tese de doutorado. Escola Paulista de Medicina, p. 142.
138. KUEPPERS, P.M.; MILLER, T.A.; CHEN, C.Y.K. et al. Effect of total parenteral nutrition plus morphine on bacterial translocation in rats. **Ann. Surg.**, v. 217, p.286-292, 1993.
139. KUHN III, C. Normal anatomy and histology. In: THURLBECK, W.M. ed. **Pathology of the lung**. New York, Thieme, 1988. p. 11-50.
140. KUMAR, V. Basic immunology. In: ROBBINS, S.L.; COTRAN, R.S. Eds. **Pathologic basis of disease**. Philadelphia, W. B Saunders, 1979. p 262-278.
141. KURAOKA, S.; CAMPEAU, J.D.; NAKAMURA, R.M. et al. Modulation of postsurgical macrophage function by early postsurgical polymorphonuclear leukocytes. **J. Surg. Res.**, v. 53, p. 245-250, 1992.
142. LAI, E.C.S.; CHU, K.M.; LO, C-Y. et al. Surgery for malignant obstructive jaundice: analysis of mortality. **Surgery**, v. 112, p.891-896, 1992.
143. LANSER, M.E.; SABA, T.M. Neutrophil-mediated lung localization of bacteria: a mechanism for pulmonary injury. **Surgery**, v. 90, p.473-481, 1981.
144. LARSON, M.V.; AHLQVIST, D.A.; KARLSTROM, L. et al. Intraluminal measurement of enteric mucosal perfusion. **Surgery** v. 115, p. 118-126, 1994.
145. LEBREC, D.; BLANCHET, L. Effect of two models of portal hypertension on splanchnic organ blood flow in the rat. **Clin. Sci.**, v. 68, p. 23-28, 1985.
146. LEE, E. The effect of obstructive jaundice on the migration of reticulo-endothelial cells and fibroblasts into early experimental granulomata. **Br. J. Surg.**, v.59, p.875-877, 1972.
147. LEE, S.S.; HADENGUE, A.; GIROD, C. et al. Reduction of intrahepatic vascular space in the pathogenesis of portal hypertension. **Gastroenterology** v. 93, p. 157-161, 1987.
148. LELLI Jr., J.L.; PRADHAN, S.; COBB, L.M. Prevention of posts ischemic injury in immature intestine by deferoxamine. **J. Surg. Res.** v. 54, p. 34-38, 1993.
149. LEVINE, G.M.; DEREN, J.J.; STEIGER, E. et al. Role of oral intake in maintenance of gut mass and disaccharide activity. **Gastroenterology**, v. 67, p.975-982, 1974.
150. LEVY, O.; OOI, C.E.; WEISS, J. et al. Individual and synergistic effects of rabbit granulocyte proteins on *Escherichia coli*. **J. Clin. Invest.** v. 94, p. 672-682, 1994.
151. LIAO, W.; FLORÉN, C-H. Endotoxin, cytokines, and hyperlipidemia. **Scand. J. Gastroenterol.**, v. 28, p.97-103, 1993.
152. LOPASSO, F.P. **Vagotomia gástrica proximal: comportamento da atividade secretora ácida, gastrinemia e densidade das células das glândulas antrais e duodenais**. São Paulo, 1990. Tese de Livre Docência. Universidade de São Paulo.

153. LOWRY, S.F. Cytokine mediators of immunity and inflammation. *Arch. Surg.*, v.128, p.1235-1241, 1993.
154. LYNCH, J.W.; MILES, J.M.; BAILEY, J.W. Effects of the short-chain triglyceride triacetin on intestinal mucosa and metabolic substrates in rats. *J. Parenter. Enter. Nutr.*, v. 18, p. 208-213, 1994.
155. MARSHALL, J.C.; LEE, C.; MEAKINS, M. J. et al. Kupffer cell modulation of the systemic immune response. *Arch. Surg.*, v. 122, p. 191-195, 1987.
156. MARSHALL, J.C.; RIBEIRO, M.B.; CHU, P.T.Y. et al. Portal endotoxemia stimulates the release of an immunosuppressive factor from alveolar and splenic macrophages. *J. Surg. Res.*, v. 55, p. 14-20, 1993.
157. MARTINEZ-RÓDENAS, F.; OMS, L.M.; CARULLA, X. et al. Measurements of body water compartments after ligation of the common bile duct in the rabbit. *Br. J. Surg.* v.76, p. 461-464, 1989.
158. MATHIE, R.T.; NAGORNEY, D.M.; BLUMGART, L.H. Flujo sanguíneo hepático. In: BLUMGART, L.H. *Cirugía del hígado y de las vías biliares*. Buenos Aires, Médica Panamericana, 1990. p. 87-103.
159. MATHIE, R.T.; NAGORNEY, D.M.; LEWIS, M.H. et al. Hepatic hemodynamics after chronic obstruction of the biliary tract in the dog. *Surg. Gynecol. Obstet.*, v.166, p. 125-130, 1988.
160. McANEMA, O.J., MOORE, F.A.; MOORE, E.E. et al. Selective uptake of glutamine in the gastrointestinal tract. *Br. J. Surg.*, v.78, p. 480-482, 1991.
161. McMANUS, J.P.; ISSELBACHER, K.J. Effect of fasting versus feeding on the rat small intestine: morphological, biochemical, and functional differences. *Gastroenterology*, v.59, p.214-221, 1970.
162. McPHERSON, G.A.D.; BENJAMIN, I.S.; HODGSON, H.J.F. et al. Preoperative percutaneous transhepatic biliary drainage: the results of a controlled trial. *Br. J. Surg.*, v.71, p.371-375, 1984.
163. McSHERRY, C.K.; GLENN, F. The incidence and causes of death following surgery for nonmalignant biliary tract disease. *Ann. Surg.*, v. 191, p.271-275, 1980.
164. MEGISON, S.M.; DUNN, C.W.; HORTON, J.W. et al. Effects of relief of biliary obstruction on mononuclear phagocyte system function and cell mediated immunity. *Br. J. Surg.*, v.78, p.568-571, 1991.
165. MEGUID, M.M.; CAMPOS, A.C.; HAMMOND, W.G.. Nutritional support in surgical practice: part I. *Am. J. Surg.*, v. 159, p.345-358, 1990.
166. MESH, C.L.; JOH, T.; KORTHUIS, R.J. et al. Intestinal vascular sensitivity to vasopressin in portal hypertensive rats. *Gastroenterology*, v. 100, p. 916-921, 1991.
167. MESTER, M.; TOMPKINS, R.G.; GELFAND, J.A. et al. Intestinal production of interleukin-1 $\alpha$  during endotoxemia in the mouse. *J. Surg Res.* v. 54, p. 584-591, 1993.
168. MEUERLING, S.; ROOS, K.A. Gut structure changes in rats on continuous and intermittent complete parenteral nutrition. *Acta Chir. Scand.* v. 147, p. 451-457, 1981.
169. MILLER, M.J.S.; ZHANG, X.-J.; SADOWSKA-KROWICKA, H. et al. Nitric oxide release in response to gut injury. *Scand. J. Gastroenterol.*, v. 28, p. 149-154, 1993.
170. MOLLOY, R.G.; MANNICK, J.A.; RODRICK, M.L. Cytokines, sepsis and immunomodulation. *Br. J. Surg.* v. 80, p.289-297, 1993.
171. MONTGOMERY, A.; ALMQVIST, P.; ARVIDSSON, D. et al. Early detection of gastrointestinal mucosal ischemia in porcine *E. coli* sepsis. *Acta Chir. Scand.*, v. 156, p.613-620, 1990.
172. MOORE Jr., F.D.; MOSS, N.A.; REVHAUG, A. et al. A single dose of endotoxina activates neutrophils without activating complement. *Surgery*, v. 102, p.200-205, 1987.
173. MULLIGAN, M.S.; POLLEY, M.J.; BAYER, R.J. et al. Neutrophil-dependent acute lung injury. *J. Clin. Invest.*, v.90, p. 1600-1607, 1992.
174. NAGORE, N.; HOWE, S.; SCHEUER, P.J. The three-dimensional liver. In: *Progress in liver diseases*, v.9. Philadelphia, W.B. Saunders, 1990.

175. NAGORNEY, D. M. DONOHUE, J.H.; FARNELL, M.B. et al. Outcomes after curative resections of cholangiocarcinoma. *Arch. Surg.*, v. 128, p. 871-879, 1993.
176. NEOPTOLEMOS, J.P.; DAVIDSON, B.R.; SHAW, D.E. et al. Study of common duct exploration and endoscopic sphincterotomy in a consecutive series of 438 patients. *Br. J. Surg.*, v.74. p.916-921, 1987.
177. NEWSHOLME, E.A.; CRABTREE, B.; ARDAWI, M.S.M. Glutamine metabolism in lymphocytes. *J. Exp. Physiol.*, v. 70, p. 473-489, 1985.
178. NI, Y.; LUKITO, G.; MARCHAL, G. et al. Potential role of bile duct collaterals in the recovery of the biliary obstruction. *Hepatology*, v. 20, p. 1557-1566, 1994.
179. O'CONNOR ALLEN M.; WILTON, P.B.; BARKE R.A. et al. Effects of biliary obstruction on hepatic clearance of bacteria. *Arch. Surg.*, v. 124, p. 973-977, 1989.
180. OHLSSON, E.G. The effect of biliary obstruction on the distribution of the hepatic blood flow and reticuloendothelial system in dogs. *Acta Chir. Scand.*, v. 138, p.159-164, 1972.
181. OHLSSON, E.G.; RUTHERFORD, R.B.; BOITNOTT, J.K. et al. Changes in portal circulation after biliary obstruction in dogs. *Am. J. Surg.*, v. 120, p.16-22, 1970.
182. OHLSSON, E.G.; RUTHERFORD, R.B.; HAALEBOS, M.M.P. et al. The effect of biliary obstruction on hepatosplanchnic blood flow in dogs. *J. Surg. Res.*, v. 10, p. 201-208, 1970.
183. OHSHIO, G.; MANABE, T.; TAMURA, K. et al. Effects of percutaneous transhepatic biliary drainage on blood-bile permeability and selective IgA transport in patients with biliary obstruction. *Ann. Surg.*, v. 211, p.428-432, 1990.
184. OHSHIO, G.; MANABE, T.; TOBE, T. et al. Circulating immune complex endotoxin, and biliary infection in patients with biliary obstruction. *Am. J. Surg.*, v. 155, p.343-347, 1988.
185. OHTA, T.; NAGAKAWA, T.; TSUKIOKA, Y. et al. Proliferation activity of bile duct epithelium after bacterial infection in dogs. *Scand. J. Gastroenterol.*, v. 27, p. 847-851, 1992.
186. OKA, Y.; MURATA, A.; NISHIJIMA, J. et al. The mechanism of hepatic cellular injury in sepsis. *J. Surg. Res.*, v. 55, p. 1-8, 1993.
187. OKUSAWA, S.; GELFAND, J.A.; IKEJIMA, T. et al. Interleukin 1 induces a shock-like state in rabbits. Synergism with tumor necrosis factor and the effect of cyclooxygenase inhibition. *J. Clin. Invest.* v. 81, p. 1162-1172, 1988.
188. OLOFSSON, P.; NYLANDER, G.; OLSSON, P. Endotoxin - transport routes and kinetics in intestinal ischemia. *Acta Chir. Scand.*, v. 151, p.635-639, 1985.
189. OSNES, T.; KIERULF, P.; SKAR, V. et al. Quantification of lipopolysaccharides in human bile with or without gram-negative bacteria. *Scand. J. Gastroenterol.*, v. 27, p.453-458, 1992.
190. OZAWA, K.; YAMADA, T.; IDA, T. et al. Primary cause of decreased functional reserve in the liver of icteric patients and rats. *Surg. Gynecol. Obstet.*, v. 139, p. 358-362, 1974.
191. PAGANI, F.D.; BAKER, L.S.; HSI, C. et al. Left ventricular systolic and diastoli dysfunction after infusion of tumor necrosis factor- $\alpha$  in conscious dogs. *J. Clin. Invest.*, v.9, p. 389-398, 1992.
192. PAIN, J.A. Reticulo-endothelial function in obstructive jaundice. *Br. J. Surg.*, v.74, p.1091-1094, 1987.
193. PAIN, J.A.; BAILEY, M.E. Experimental and clinical study of lactulose in obstructive jaundice. *Br. J. Surg.*, v.73, p.775-778, 1986.
194. PAIN, J.A.; BAILEY, M.E. Measurement of operative endotoxin levels in jaundiced and non-jaundiced patients. *Eur. Surg. Res.*, v. 19, p. 207-216, 1987.
195. PAIN, J.A.; CAHILL, C.J.; BAILEY, M.E. Perioperative complications in obstructive jaundice: therapeutic considerations. *Br. J. Surg.*, v. 72, p.942-945, 1985.
196. PALMER, K.R.; BARBER, D.C.; SHERRIFF, S.B. et. al. Reticuloendothelial function in coeliac disease and ulcerative colitis. *Gut*, v. 24, p.384-388, 1983.

197. PALMER, R.M.J. The discovery of nitric oxide in the vessel wall. **Arch. Surg.**, v. 128-, p. 396-401, 1993.
198. PALOMBO, J.D.; BLACKBURN, G.L.; FORSE, R.A. Endothelial cell factors and response to injury. **Surg. Gynecol. Obst.**, v. 173, p. 505-518, 1991.
199. PAPA, M.; HALPERIN, Z.; RUBENSTEIN, E. et al. The effect of ischemia of the dogs colon on transmural migration of bacteria and endotoxin. **J. Surg. Res.**, v. 35, p.264-269, 1983.
200. PARK, P.O.; HAGLUND, U.; BULKLEY, G.B. et al. The sequence of development of intestinal tissue injury after strangulation ischemia and reperfusion. **Surgery**, v. 107, p. 574-80, 1990.
201. PARKS, D.A.; BULKLEY, G.B.; GRANGER, D.N. Role of oxygen-derived free radicals in digestive tract diseases. **Surgery**, v. 94, p. 415-422, 1983.
202. PELLEGRINI, C.A.; ALLEGRA, P.; BONGARD, F.S. et al. Risk of biliary surgery in patients with hyperbilirubinemia. **Am. J. Surg.**, v. 154, p.111-117, 1987.
203. PELEGRINI, C.A.; THOMAS, M.J.; WAY, L.W. Bilirubin and alkaline phosphatase values before and after surgery for biliary obstruction. **Am. J. Surg.**, v. 143, p. 67-73, 1982.
204. PEREIRA, J.A.; TORREGROSA, M.A.; MARTINEZ-RÓDENAS, F. et al. Increased cardiac endocrine activity after common bile duct ligation in the rabbit. Atrial endocrine cells in obstructive jaundice. **Ann. Surg.**, v. 219, p.73-78, 1994.
205. PITT, H.A.; GOMES, A.S.; LOIS, J.F. et al. Does preoperative percutaneous biliary drainage reduce operative risk or increase hospital cost? **Ann. Surg.**, v.201, p. 545-553, 1985.
206. PITT, H.A.; POSTIER, R.G.; CAMERON, J.L. Biliary bacteria. Significance and alterations after antibiotic therapy. **Arch. Surg.**, v. 117, p. 445-449, 1982.
207. PLUMLEY, D.A.; SOUBA, W.W.; HAUTAMAKI, R.D. et al. Accelerated lung amino acid release in hyperdynamic septic surgical patients. **Arch. Surg.**, v. 125, p. 57-61, 1990.
208. POOLE, G.V.; MUAKKASSA, F.F.; GRISWOLD, J.A. The role of infection in outcome of multiple organ failure. **Am. Surg.**, v. 59, p. 727-732, 1993.
209. POSNER, M.C.; BURT, M.E.; STOE, M.D. et al. A model of reversible obstructive jaundice in the rat. **J. Surg. Res.**, v. 48, p. 204-210, 1990.
210. QUINONES, J.D. Localization of technetium-sulfur colloid after RES stimulation. **J. Nucl. Med.**, v.14, p. 443-444, 1973.
211. RABINOVICI, R.; YUE, T.-L.; KRAUSZ, M.M. et al. Hemodynamic, hematologic and eicosanoid mediated mechanisms in 7.5 percent sodium chloride treatment of uncontrolled hemorrhagic shock. **Surg. Gynecol. Obst.**, v.175, p. 341-354, 1992.
212. RAPER, S.E.; BARKER, M.E.; JONES, A.L. et al. Anatomic correlates of bacterial cholangiovenous reflux. **Surgery**, v. 105, p. 352-359, 1989.
213. RAVIOLA, E. Sistema imunitário. In: BLOOM, W.; FAWCETT, D.W. **Tratado de histologia**. Rio de Janeiro, Interamericana, 1975. p. 392-418.
214. REIDY, J.; WRIGHT, I.; BOOM, S.J. et al. Prevention of cardiovascular effects of endotoxaemia by monoclonal antibodies specific for core endotoxin. **Br. J. Surg.**, v. 79, p. 1087-1090, 1992.
215. RENNIE, M.J.; HUNDAL, H.S.; BABIJ, P. et al. Characteristics of a glutamine carrier in skeletal muscle have important consequences for nitrogen loss in injury, infection and chronic diseases. **Lancet**, v. 2, p. 1008-1012, 1986.
216. RICHARDSON, J.D.; DeCAMP, M.M.; GARRISON, R.N. et al. Pulmonary infection complicating intra-abdominal sepsis. **Ann. Surg.**, v. 195, p. 732-737, 1982.
217. ROGERS, A.L.; FARHA, G.J.; BEAMER, R.L. et al. Incidence and associated mortality of retained common bile duct stones. **Am. J. Surg.**, v. 150, p. 690-693, 1985.
218. RÖHRIG, C.E.; BERGER, C.A.S.; CANELLO, B. et al. Translocação de bactérias viáveis na icterícia obstrutiva em ratos tratados com dieta enriquecida por glutamina. In: XXXIII CONGRESSO BRASILEIRO DE GASTROENTEROLOGIA... Porto Alegre, 1994. **Resumo dos trabalhos científicos**. p. 165.

219. RÖHRIG, C.E.; BOSCOLI, I. F.; CANELLO, G. et al. Icterícia obstrutiva e dieta rica em aminoácidos. In: XI SEMINÁRIO BRASILEIRO DE ENDOSCOPIA DIGESTIVA... Curitiba, 1993. **Programa Científico**, p. 94.
220. RÖHRIG, C.E.; CLAUSI, C.M.; SOUZA Fo., Z.A. et al. Uso de nimesulide na injúria pulmonar aguda em cães. **Acta Cir. Bras.**, v. 6 (suppl. 1), p. 56-57, 1991.
221. RÖHRIG, C.E.; OTTA, E.K.; CANELLO, G. et al. Função do sistema retículo endotelial hepático na icterícia obstrutiva: efeito da dieta enriquecida por glutamina. In: XXXIII CONGRESSO BRASILEIRO DE GASTROENTEROLOGIA... Porto Alegre, 1994. **Resumo dos trabalhos científicos**, p. 165.
222. RÖHRIG, C.E.; SOUZA, H.A.P.M.; CANELLO, G. et al. Translocação de bactérias viáveis na icterícia obstrutiva em ratos tratados com dieta enriquecida por glutamina. **Arq. Bras. Cir. Digest.** v. 9, (supl. 2), p. 28, 1994.
223. RÖHRIG, C.E.; STEINER, M.T.A.; CARNIERI, C. et al. Diagnóstico diferencial da causa da icterícia obstrutiva por programação linear discriminante não convexa, por partes. In: XI SEMINÁRIO BRASILEIRO DE ENDOSCOPIA DIGESTIVA... Curitiba, 1993. **Programa científico**, p. 94.
224. RÖHRIG, C.E.; WOELNER, L.C.; OTTA, E.K. et al. Função do sistema retículo endotelial pulmonar na icterícia obstrutiva: efeito da dieta enriquecida por glutamina. In: XXXIII CONGRESSO BRASILEIRO DE GASTROENTEROLOGIA... Porto Alegre, 1994. **Resumo dos trabalhos científicos**, p. 165.
225. ROITT, I.M.; BROSTOFF, J.; MALE, D.K. **Imunologia**. São Paulo, Manole, 1989. p. 292.
226. ROUGHNEEN, P.T.; DRATH, D.B.; KULKARNI, A.D. et al. Impaired nonspecific cellular immunity in experimental cholestasis. **Ann. Surg.**, v. 206, p.578-582, 1987.
227. ROUGHNEEN, P.T.; DRATH, D.B.; KULKARNI, A.D. et al. Inflammatory cell function in young rodents with experimental cholestasis. **J. Pediatr. Surg.**, v.24, p. 668-673, 1989.
228. ROUGHNEEN, P.T.; GOUMA, D.J.; KULKARNI, A.D. et al. Impaired specific cell-mediated immunity in experimental biliary obstruction and its reversibility by internal biliary drainage. **J. Surg. Res.**, v. 41, p.113-125, 1986.
229. ROUGHNEEN, P.T.; KUMAR, S.C.; PELLIS, N.R. et al. Endotoxemia and cholestasis. **Surg. Gynec. Obstet.** v. 167, p. 205-210, 1988.
230. RYAN, C.J.; THAN, T.; BLUMGART, L.H. Choledochoduodenostomy in the rat with obstructive jaundice. **J. Surg. Res.**, v. 23, p. 321-331, 1977.
231. RYDÉN, S.; STRAND, S-E.; PALMER, J. et al. A scintillation camera technique for measurements of the reticuloendothelial function - comparison of different methods for measuring RES function. **Eur. J. Nucl. Med.**, v.7, p.16-21, 1982.
232. SABA, T.M. Effect of surgical trauma on the clearance and localization of blood-borne particulate matter. **Surgery**, v. 71, p. 675-685, 1972.
233. SABA, T.M. Physiology and physiopathology of the reticuloendothelial system. **Arch. Intern. Med.**, v.126, p. 1031-1052, 1970.
234. SALLOUM, R.M.; COPELAND, E.M.; SOUBA, W.W. Brush border transport of glutamine and other substrates during sepsis and endotoxemia. **Ann. Surg.**, v. 213, p. 401-409, 1991.
235. SARANTOS, P.; OCKERT, K.; SOUBA, W.W. Endotoxin stimulates lymphocyte glutaminase expression. **Arch. Surg.** v.20, p. 920-924, 1993.
236. SATO, M.K.; RODRIGUES, Jr. A.; CAMARGO, E.E. Labeling of *Salmonella typhimurium* with iodine-131 to study phagocytic function in rats. **Rev. Inst. Med. Trop.**, v. 31, p. 135-138, 1989.
237. SCALIA, S.; BURTON, H.; WYLEN, D. van et al. Persistent arteriolar constriction in microcirculation of the terminal ileum following moderate hemorrhagic hypovolemia and volume restoration. **J. Trauma**, v.30, p. 713-718, 1990.
238. SCHOENBERG, M.H.; MUHL, E.; SELLIN, D. et al. Posthypotensive generation of superoxide free radicals- Possible role in the pathogenesis of the intestinal mucosal damage. **Acta Chir. Scand.**, v. 150, p. 301-309, 1984.

239. SCOTT-CONNER, C.E.H.; BERNSTEIN, J.M.; SCHER, K.S. et al. The effect of biliary obstruction on a gram-negative bacteremic challenge: A preliminary report. *Surgery*, v. 99, p. 679-682, 1986.
240. SCOTT-CONNER, C.E.H.; GROGAN, J.B. Serum and cellular factors in murine obstructive jaundice. *Surgery*, v. 115, p.77-84, 1994.
241. SCOTT-CONNER, C.E.H.; GROGAN, J.B.; SCHER, K.S. et al. Impaired bacterial killing in early obstructive jaundice. *Am. J. Surg.*, v. 166, p. 308-310, 1993.
242. SCOTT-CONNER, C.E.H.; GROGAN, J.B.; SCHER, K.S. et al. Impaired clearance of *Escherichia coli* bacteremia in early biliary obstruction. *Am. J. Surg.*, v. 157, p. 210-214, 1989.
243. SEDGWICK, C.E.; POULATZAS, J.K.; KUNE, G.A. Management of portal hypertension secondary to bile duct stenosis: review of 18 cases with sprenorenal shunt. *Ann. Surg.*, v. 163, p. 949-953, 1966.
244. SHANDS, J.W.; CHUN, P.W. The dispersion of gram-negative lipopolysaccharide by deoxycholate. *J. Biol. Chem.*, v. 255, p. 1221-1226, 1980.
245. SHATTUCK, K.E.; GRINNELL, C.D.; RASSIN, D.K. Biliary amino acid and glutathione secretion in response to amino acid infusion in the isolated rat liver. *J. Parenter. Enter. Nutr.*, v. 18, p. 119-127, 1994.
246. SHAUDER, P.; SCHRÖDER, M.T.; SCHÄFER, G. Regulation of leucine transport and oxidation in peripheral human lymphocytes by glutamine. *Metabolism*, v. 38 (suppl.1), p. 56-58, 1989.
247. SHERIDAN, W.G.; WILLIAMS, H.O.L.; LEWIS, M.H. Morbidity and mortality of common bile duct exploration. *Br. J. Surg.*, v.74, p. 1095-1099, 1987.
248. SHERLOCK, S. **Diseases of the liver and biliary system**. 7.ed. Oxford. Blackwell, 1985. p. 67.
249. SIEGEL, J.H.; SNADY, H. The significance of endoscopically placed prostheses in the management of biliary obstruction due to carcinoma of the pancreas: results of nonoperative decompression in 277 patients. *Am. J. Gastroenterol.*, v. 81, p.634-641, 1986.
250. SIEGEL, S. **Estatística não paramétrica**. São Paulo, McGraw-Hill, 1975. 349 p.
251. SIMPSON, R.; ALON, R.; KOBZIK, L. et al. Neutrophil and nonneutrophil-mediated injury in intestinal ischemia-reperfusion. *Ann. Surg.*, v.218, p.444-454, 1993.
252. SITZMANN, J.V.; BULKLEY, G.B.; MITCHELL, M.C. et al. Role of prostacyclin in the splanchnic hyperemia contributing to portal hypertension. *Ann. Surg.*, v.209, p.322-327, 1989.
253. SLOTT, P.A.; LIU, M.H.; TAVOLINI, N. Origin, pattern, and mechanism of bile duct proliferation following biliary obstruction in the rat. *Gastroenterology*, v. 99, p. 466-477, 1990.
254. SMITH, R.J. Glutamine metabolism and its physiologic importance. *J. Parenter. Enter. Nutr.*, v. 14 (supl.1), p. 40S-44S, 1990.
255. SOUBA, W.W.; HERSKOWITZ, K.; AUSTGEN, T. R. et al. Gut glutamine metabolism. *J. Parenter. Enter. Nutr.*, v. 14, (sup.5), p. 237S- 243S, 1990.
256. SOUBA, W.W.; HERSKOWITZ, K.; KLIMBERG, V.S. et al. The effects of sepsis and endotoxemia on gut glutamine metabolism. *Ann. Surg.*, v. 211, p.543-549, 1990.
257. SOUBA, W.W.; KLIMBERG, S.V.; HAUTAMAKI, R.J. et al. Oral glutamine reduces bacterial translocation following abdominal radiation. *J. Surg. Res.*, v.48, p.1-5, 1990.
258. SOUBA, W.W.; KLIMBERG, V.S.; PLUMLEY, D.A. et al. The role of glutamine in maintaining a healthy gut and supporting the metabolic response to injury and infection. *J. Surg. Res.*, v.48, p.383-391, 1990.
259. SPAETH, G.; GOTTWALD, T.; HAAS, W. et al. Glutamine peptide does not improve gut barrier function and mucosal immunity in total parenteral nutrition. *J. Parenter. Enter. Nutr.*, v. 18, p. 167-171, 1994.
260. SPITZER, J.A.; MAYER, A.M.S. Hepatic neutrophil influx. *J. Surg. Res.*, v.55, p. 60-67, 1993.
261. SQUIRES, E.C.; BRUNSON, M.E.; SALOMON, D.R. Kupffer cells can present alloantigen *in vitro*. *J. Surg. Res.*, v. 55, p. 571-574, 1993.

262. STARNES, Jr. H.F.; CONTI, P.S.; WARREN, R.S. et al. Altered peripheral amino acid uptake in obstructive jaundice. **J. Surg. Res.**, v. 42, p. 383-393, 1987.
263. STEFFES, C.P.; DAHN, M.S.; LANGE, M.P. Oxygen transport - dependent splanchnic metabolism in the sepsis syndrome. **Arch. Surg.**, v. 129, p. 46-52, 1994.
264. STEHLE, P.; ZANDER, J.; MERTES, N. et al. Effect of parenteral glutamine peptide supplements on muscle glutamine loss and nitrogen balance after major surgery. **Lancet**, v. 1, p. 231-233, 1989.
265. STEINER, M.T.A.; CARNIERI, C.; CHAVES, Neto A. et al. Programação linear e métodos estatísticos em reconhecimento de padrão. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PESQUISA OPERACIONAL Campinas, 1993. **Anais...** p. 489-493.
266. STEWART, K.D.; BRACKETT, D.J.; LERNER, M.R. et al. Comparison of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* infusion in conscious rats. **J. Surg. Res.**, v.56, p. 60-66, 1994.
267. STEWART, L.; PELLEGRINI, C.A.; WAY, L.W. Antibacterial activity of bile acids against common biliary tract organisms. **Surg. Forum**, v. 37, p. 157-159, 1986.
268. STEWART, L.; PELLEGRINI, C.A.; WAY, L.W. Cholangiovenous reflux pathways as defined by corrosion casting and scanning electron microscopy. **Am. J. Surg.**, v. 155, p. 23-27, 1988.
269. STIGES-SERRA, A.; CARULLA, X.; PIERA, C. et al. Body water compartments in patients with obstructive jaundice. **Br. J. Surg.**, v. 79, p. 553-556, 1992.
270. SUNG, J.Y.; COSTERTON, J.W.; SHAFFER, E.A. Defense system in the biliary tract against bacterial infection. **Dig. Dis. Sci.**, v. 37, p. 689-696, 1992.
271. SUNG, J.Y.; SHAFFER, E.A.; OLSON, M.E. et al. Bacterial invasion of the biliary system by way of the portal-venous system. **Hepatology**, v. 14, p. 313-317, 1991.
272. TANAKA, N.; CHRISTENSEN, P.; RYDÉN, S. et al. Biliary obstruction and susceptibility to biliary sepsis in rats. **Res. Exp. Med.**, v.185, p. 115-119, 1985.
273. TANAKA, N.; RYDÉN, S.; BERGQVIST, L. et al. Reticulo-endothelial function in rats with obstructive jaundice. **Br. J. Surg.**, v. 72, p. 946-949, 1985.
274. TANNER, A.R.; ARTHUR, M.O.P.; WRIGHT, R. Macrophage activation, chronic inflammation and gastrointestinal disease. **Gut**, v. 25, p. 760-783, 1984.
275. TAVOLINI, N.; WYSSBROD, H.R.; JONES, M.J. Permeability characteristics of the guinea pig biliary apparatus. **Hepatology**, v.6, p.1369-1381, 1986.
276. THOMPSON, J.N.; COHEN, J.; MOORE, R.H. et al. Endotoxemia in obstructive jaundice. Observations on cause and clinical significance. **Am. J. Surg.**, v. 155, p. 314-321, 1988.
277. THOMPSON, J.N.; EDWARDS, W.H.; WINEARLS, C.G. et al. Renal impairment following biliary tract surgery. **Br. J. Surg.**, v. 74, p. 843-847, 1987.
278. THOMPSON, R.L.E.; HOPER, M.; DIAMOND, T. et al. Development and reversibility of T lymphocyte dysfunction in experimental obstructive jaundice. **Br. J. Surg.**, v. 77, p. 1229-1232, 1990.
279. THOMPSON, W.A.; COYLE, S.; ZEE, K. van et al. The metabolic effects of platelet-activating factor antagonism in endotoxemic man. **Arch. Surg.**, v.129, p. 72-79, 1994.
280. THURLBECK, W. M. ed **Pathology of the lung** New York, Thieme, 1988. p. 51-55..
281. TOWNSEND, M.C.; HAMPTON, W.W.; HAYBRON, D.M. et al. Effective organ blood flow and bioenergy status in murine peritonitis. **Surgery**, v. 100, p. 205-212, 1986.
282. TRAMS, E.G.; SYMEONIDIS, A. Morphologic and functional changes in the livers of rats after ligation or excision of common bile duct. **Am. J. Pathol.**, v.33, p. 13-27, 1957.
283. TSUJINAKA, T.; ISHIDA, H.; KIDO, Y. et al. Dynamic change of reticuloendothelial system function after surgical stress. **J. Parenter. Enter. Nutr.**, v. 17, p. 73-76, 1993.
284. UTILI, R.; ABERNATHY, C.O.; ZIMMERMAN, H.J. Cholestatic effects of *Escherichia coli* endotoxin on the isolated perfused rat liver. **Gastroenterology**, v. 70, p. 248-253, 1976.

285. VALVERDE, J.; MARTÍNEZ-RÓDENAS, F.; PEREIRA, J.A. et al. Rapid increase in plasma levels of atrial natriuretic peptide after common bile duct ligation in the rabbit. **Ann. Surg.**, v. 216, p. 554-559, 1992.
286. VANE, D.W.; REDLICH, P.; WEBER, T. et al. Impaired immune function in obstructive jaundice. **J. Surg. Res.**, v. 45, p. 287-293, 1988.
287. VIEIRA, S. **Introdução á bioestatística**. 2.ed. Rio de Janeiro, Campus. 1983. p.205-221.
288. WAIT, R.B.; KAHNG, K.U. Renal failure complicating obstructive jaundice. **Am. J. Surg.**, v. 157, p. 256-263, 1989.
289. WANG, X.D.; AR'RAJAB, A.; ANDERSSON, R. et al. The influence of surgically induced acute liver failure on the intestine in the rat. **Scand. J. Gastroenterol.**, v. 28, p. 31-40, 1993.
290. WARDLE, E.N.; WRIGHT, N.A. Endotoxin and acute renal failure associated with obstructive jaundice. **Br. Med. J.**, v. 4, p. 472-474, 1970.
291. WATANAPA, P.; WILLIAMSON, R.C.N. Surgical palliation for pancreatic cancer: developments during the past two decades. **Br. J. Surg.**, v.79, p. 8-20, 1992.
292. WAY III, C.W. Nutritional support in the injured patient. **Surg. Clin. N. Amer.**, v. 71, p. 537-548, 1991.
293. WELBOURN, C.R.B.; YOUNG, Y. Endotoxin, septic shock and acute lung injury: neutrophils, macrophages and inflammatory mediators. **Br. J. Surg.**, v. 79, p. 998-1003, 1992.
294. WELLS, C.L.; MADDAUS, M.A.; REYNOLDS, C.M. et al. Role of the anaerobic flora in the translocation of aerobic and facultative anaerobic intestinal bacteria. **Infect. Immunol.**, v.55, p. 2689-2694, 1987.
295. WELLS, C.L.; MADDAUS, M.A.; SIMMONS, R.L. Proposed mechanisms for the translocation of intestinal bacteria. **Rev. Infect. Dis.**, v. 10, p. 958-979, 1988.
296. WELLS, C.L.; MADDAUS, M.A.; SIMMONS, R. L. Role of the macrophage in the translocation of intestinal bacteria. **Arch. Surg.**, v. 122, p. 48-52, 1987.
297. WELLS, G.R.; TAYLOR, E.W.; LIDSAY, G. et al. Relationship between bile colonization, high-risk factors and postoperative sepsis in patients undergoing biliary tract operations while receiving a prophylactic antibiotic. **Br. J. Surg.**, v. 76, p. 374-377, 1989.
298. WEST, M.A.; KELLER, G.A.; CERRA, F.B. et al. Killed *Escherichia coli* stimulates macrophage-mediated alterations in hepatocellular function during in vitro coculture. **Infect. Immunol.**, v. 49, p. 563-570, 1985.
299. WEST, M.A.; KELLER, G.A.; HYLAND, B.J. et al. Hepatocyte function in sepsis. **Surgery**, v. 98, p. 388-393, 1985.
300. WILKINSON, S.P.; MOODIE, H.; STAMATAKIS, J.D. et al. Endotoxaemia and renal failure in cirrhosis and obstructive jaundice. **Br. Med. J.**, v. 2, p. 1415-1418, 1976.
301. WILLIAMS, R.C.; SHOWALTER, R.; KERN, F. In vivo affect of bile salts and cholestyramine on intestinal anaerobic bacteria. **Gastroenterology**, v. 69, p. 483-491, 1975.
302. WINDMUELLER, H.G.; SPAETH, A.E. Intestinal glutamine metabolism. **Metabolism**, v. 38 (sup.1), p. 18-24, 1989.
303. WINDMUELLER, H.G.; SPAETH, A.E. Respiratory fuels and nitrogen metabolism in vivo in small intestine of fed rats. **J. Biol. Chem.**, v. 255, p. 107-112, 1980.
304. WINDSOR, A.C.J.; MULLEN, P.G.; WALSH, C.J. et al. Delayed tumor necrosis factor  $\alpha$  blockade attenuates pulmonary dysfunction and metabolic acidosis associated with experimental Gram-negative sepsis. **Arch. Surg.**, v. 129, p. 80-89, 1994.
305. WU, Y.; CAMPBELL, K.A.; SITZMANN, J.V. Hormonal and splanchnic hemodynamic alterations following hepatic resection. **J. Surg. Res.**, v. 55, p. 44-48, 1993.
306. YANO, K.; NISHIDA, M.; SUZUKI, T. The effect of temporary hepatic artery or portal vein occlusion in obstructive jaundice. **J. Surg. Res.** v.53, p. 470-474, 1992.