

PAOLO ROGÉRIO DE OLIVEIRA SALVALAGGIO



**EFEITO DA GLUTAMINA SOBRE A TRANSLOCAÇÃO
BACTERIANA EM RATOS
COM OCLUSÃO INTESTINAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre.

Orientador: Clementino Zeni Neto
Coordenador: Antonio Carlos Ligocki Campos

CURITIBA
2000

PAOLO ROGÉRIO DE OLIVEIRA SALVALAGGIO

**EFEITO DA GLUTAMINA SOBRE A TRANSLOCAÇÃO
BACTERIANA EM RATOS
COM OCLUSÃO INTESTINAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre.

Orientador: Clementino Zeni Neto
Coordenador: Antonio Carlos Ligocki Campos

CURITIBA
2000

Things are not always what they seem

Phaedrus Fables

*À Eva e Laudir, meus pais, pela
minha formação, pelo incentivo
constante e por permitirem
chegar até aqui.*

*À Denise, minha noiva, pelo
grande caráter e
personalidade, paciência e
compreensão.*

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Clementino Zeni Neto, Médico do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal do Paraná e chefe do Serviço de Cirurgia do Aparelho Digestivo do Hospital e Maternidade de São José dos Pinhais, orientador desta dissertação, pela amizade e incentivo constante, pela influência direta exercida na minha formação cirúrgica e pela orientação objetiva, criteriosa e estritamente científica deste trabalho.

Ao Professor Dr. Antonio Carlos Ligocki Campos, Professor Titular do Departamento de Cirurgia e Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da Universidade Federal do Paraná, pelo exemplo profissional e de professor universitário, pelo auxílio direto e paciente na elaboração deste trabalho, bem como pela amizade e ensinamentos durante minha residência médica.

Ao Professor Dr. Julio César Uili Coelho, Professor Titular e Chefe do Serviço de Cirurgia do Aparelho Digestivo da Universidade Federal do Paraná, Chefe do Serviço de Cirurgia Geral do Hospital Nossa Senhora das Graças, pelo exemplo de caráter, profissionalismo e dedicação à cirurgia que marcaram minha formação médica, cirúrgica e científica.

Aos Drs. Paulo Cesar Andriguetto, Júlio Cesar Wiederkehr, Renato Valmassoni Pinho, Fernando Hintz Greca e Carlos Augusto Gondim, cirurgiões do Hospital Nossa Senhora das Graças, pela grande amizade e ensinamentos recebidos durante minha formação cirúrgica.

À Farmacêutica Helena Aguilar Peres Homem de Mello, Chefe do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, pela supervisão do estudo microbiológico.

Ao Sr. Roberto Ribeiro dos Santos, Técnico em Laboratório da Seção de Bacteriologia do Serviço de Análises Clínicas do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, pelo excessivo número de horas extras despendidas com o estudo microbiológico.

Ao Professor Luiz Gonzaga Caleffe, Professor do Departamento de Estatística da Universidade Federal do Paraná e Chefe do Centro de Estatística da Universidade Tuiuti do Paraná, pelo auxílio na análise estatística e paciência com que fui tratado.

Às Funcionárias do Centro Cirúrgico do Hospital e Maternidade de São José dos Pinhais, pelo preparo do material cirúrgico.

A André R. Dall'Oglio Tolazzi e Emerson L. Gasparetto, acadêmicos de medicina da Universidade Federal do Paraná, pelo auxílio na fase experimental.

Ao Dr. Bernardo Passos Sobreiro, pelas valiosas sugestões e auxílio na realização das fotografias.

À Sheila Cristina Tanaka, nutricionista do Hospital Nossa Senhora das Graças, pelos esclarecimentos e sugestões no uso dos aminoácidos.

À Ajinomoto Interamericana do Brasil, pela doação dos aminoácidos.

Aos Drs. Ivaldo da Silva e Luciana de Oliveira Andrade, Research Fellowships da Yale University e a Songyang Deng, Técnico em Laboratório da Yale University, pelo auxílio na editoração gráfica.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ATCC - American Type of Culture Collection

cGy – Centigray

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

DP – desvio padrão

1:100 – diluição de 1 mililitro do inóculo para 100 mililitros de solução fisiológica

g -gramas

g/kg – gramas por quilograma

g/L - gramas por litro

° - graus

°C - graus Celsius

IgA - Imunoglobulina A

Kcal – quilocalorias

Kcal/g – quilocalorias por grama

log - logaritmo decimal

± - mais ou menos

ml/kg – mililitros por quilogramas

ml/dia – mililitros por dia

mg/kg – miligramas por quilograma

(-) – negativo

n - número de animais

% - por cento ou percentagem

(+) - positivo

p – probabilidade

pH - potencial hidrogeniônico

R - rato

UFC/ml - Unidades formadoras de colônias por mililitro

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição da ração para ratos	20
Tabela 2 – Média dos pesos dos ratos, em gramas, nos dias iniciais e finais do experimento	31
Tabela 3 – Resultado das culturas de todos os órgãos.....	33
Tabela 4 – Resultado das culturas dos linfonodos mesentéricos.....	33
Tabela 5 – Resultado das culturas dos baços.....	34
Tabela 6 – Resultado das culturas dos fígados	35
Tabela 7 – Resultado das culturas dos pulmões	35
Tabela 8 – Resultado das hemoculturas.....	36

SUMÁRIO

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	viii
LISTA DE TABELAS	ix
RESUMO	xii
ABSTRACT	xiii
I – INTRODUÇÃO	01
1.1 Objetivos	04
II – REVISÃO DA LITERATURA	05
III – MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1 Animais	18
3.2 Grupos e dietas	19
3.3 Preparo do Inóculo	22
3.4 Preparo Operatório e Inoculação de Bactérias	25
3.5 Coleta de Material e Eutanásia	26
3.6 Estudo Microbiológico	27
3.7 Análise Estatística	28
IV – RESULTADOS	29
4.1 Peso Corporal dos Ratos	32

4.2 Ingesta Líquida e Calórica	32
4.3 Cultura dos Órgãos	32
4.4 Achados Macroscópicos	36
V – DISCUSSÃO	38
VI – CONCLUSÕES	50
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
ANEXOS	62

RESUMO

Os objetivos do presente estudo foram avaliar a eficácia da Glutamina sobre a translocação bacteriana e se a mesma apresentaria um efeito protetor sobre a barreira intestinal. Foram utilizados 23 ratos Wistar, machos, adultos, com peso médio de 215 gramas, divididos em dois grupos. No grupo GLU, os animais receberam via sonda orogástrica, 1,5 g/kg/dia de L-Glutamina a 5%, água *ad libitum* e ração para ratos durante 7 dias. No grupo GLI, os animais receberam via sonda orogástrica, 1,5 g/kg/dia de Glicina a 5%, água *ad libitum* e ração para ratos durante 7 dias. Todos os animais receberam dieta isocalórica e isoprotéica nesse período do estudo. No oitavo dia do estudo, os animais foram anestesiados e submetidos a oclusão do íleo terminal, por meio de ligadura simples com fio de nylon, sem lesão da arcada marginal dos vasos mesentéricos. Foi inoculado suspensão de *Escherichia coli* ATCC 25992 na luz do íleo terminal, proximalmente à ligadura. Em seguida, os animais foram mantidos em gaiolas individuais e tiveram livre acesso a água. Após 24 horas da cirurgia, eles foram anestesiados e o sangue da veia Porta, o linfonodo mesentérico e fragmento do baço, fígado e pulmão foram coletados e enviados para estudo microbiológico. Amostras dos órgãos foram trituradas e semeadas em placas de Petri em meios de cultura Ágar-Sangue e Ágar-Mac Conkey. As hemoculturas foram semeadas após crescimento em caldo triptico de soja nas placas de Petri. As placas foram inspecionadas diariamente para verificação ou não do crescimento de *Escherichia coli*. As contagens foram realizadas em duplicata e o valor considerado foi positivo ou negativo, segundo o crescimento de *Escherichia coli*. Foram utilizados os testes t de Student e o teste de diferença entre duas proporções para comparação entre os grupos. O nível de significância considerado foi de 5% ($p < 0.05$). Os resultados das culturas de todos os órgãos demonstraram uma menor percentagem de crescimento de *Escherichia coli* nas culturas do Grupo GLU em relação àquelas do Grupo GLI ($p = 0,027$). Os animais de ambos os grupos, apresentaram translocação bacteriana para os linfonodos mesentéricos ($p = 1$). As hemoculturas e as culturas dos baços, fígados e pulmões apresentaram menor positividade no Grupo GLU. Entretanto, essa diferença não foi significativa estatisticamente ($p > 0,05$). Concluiu-se que a translocação bacteriana foi idêntica em ambos os grupos, sendo que o uso da Glutamina, durante período prévio à lesão, não esteve associada à diminuição da translocação bacteriana. No entanto, o uso da Glutamina, durante um período prévio à lesão, diminuiu o número positivo de hemoculturas e das culturas dos baços, fígados e pulmões, demonstrando efeito protetor sobre a barreira intestinal, que não foi órgão específico.

ABSTRACT

The aims of this study were to evaluate the effect of Glutamine against bacterial translocation and its possible role as a protector of the intestinal barrier. Twenty-three male, adults Wistar rats, weighting 25 grams at the average, were splitted in two groups. In the GLU Group, the animals had received Glutamine in a dose of 1.5 g/kg/day through an orogastric tube for a period of seven days. In the GLI Group, the animals had received Glicine in a dose of 1.5 g/kg/day through an orogastric tube for a period of seven days. During this time of the study, all the animals were fed with an isocaloric and isonitrogenous diet. In the eighth-day of the study, the animals were anesthetized and an intestinal obstruction was performed by the occlusion of the terminal ileum without lesion of the mesenteric vessels. *Escherichia coli* ATCC 25992 was also injected into the lumen of the ileum. After the surgeries, the rats were kept in single houses with free access to water. Twenty-four hours later, the animals were anesthetized, the blood was drawn up, and the mesenteric lymphonode and fragment of the spleen, liver, and lung were excised and sent to microbiological assay. The organ samples were spread on Petri dishes on blood-Agar and Agar-Mac Conkey medium. The hemocultures were spread on Petri dishes after growing on Trypticase Soy Broth. The analysis was performed according the positivity of the growing of *Escherichia coli* in the Petri dishes. The Student test and the test for analysis between two proportions were used. Results were considered to be significant for values of $p < 0.05$. The results had showed that there was bacterial translocation in all the animals. All the mesenteric lymphonodes cultures had been positive in all the animals of both groups ($p=1$). It was demonstrated that the GLU Group had a lesser percentage of *Escherichia coli* grown on the the blood cultures and in the total number of the cultures of the organs studied ($p=0.027$). The individual number of *Escherichia coli* positive cultures in the blood, spleen, liver or lungs were also higher in the GLI Group ($p < 0.05$). It was concluded that the bacterial translocation was the same in both groups, and that Glutamine did not have a protective effect against bacterial translocation. Nevertheless, its use during a period previous of the lesion were associated with diminished numbers of positive *Escherichia coli* cultures of the blood and on the total number of the cultures of the organs studied. None specific organ had been found to be protected.

I - INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Barreira intestinal é o conjunto de mecanismos que, em condições normais, evita a passagem das bactérias e suas toxinas da luz entérica para outros órgãos e para a circulação sistêmica ^{43,44,60,72}. Os componentes não imunológicos dessa barreira incluem os sais biliares, os mecanismos de antagonismo e resistência à colonização bacteriana da flora intestinal, o muco, a peristalse intestinal, e o epitélio do intestino ^{72,74,78}. Como componentes imunológicos da barreira destacam-se a IgA secretória, as células de Kupffer, o tecido linfóide associado ao intestino (GALT) e os linfócitos presentes na lâmina própria e no epitélio entérico ^{15,41,74}.

Acredita-se que o intestino desenvolva mecanismos imunológicos próprios ^{15,41,74} e que, além das suas funções digestivas, absorptivas e endócrinas, seja também um órgão linfóide essencial para o organismo humano. Ao mesmo tempo, também pode funcionar como reservatório de bactérias que, em determinadas situações, podem ser lesivas para o organismo humano ⁵⁶.

A sepse e a insuficiência de órgãos e sistemas ocorrem em cerca de 400 mil pacientes por ano nos Estados Unidos ^{8,14} e em aproximadamente 15% dos pacientes atendidos em Unidades de Terapia Intensiva ⁵⁵. Permanecem como principal causa de morte nas Unidades de Terapia Intensiva e em vítimas de grandes traumas, com mortalidade superior a 30% ^{8,14,35,53}. Os pacientes passam, em média, 21 dias internados em

estado grave e têm um custo estimado de internamento e reabilitação de 385 mil dólares⁵³. Em 15% destes pacientes, não se determina a origem da infecção e em 30% o foco infeccioso também não é encontrado no ato operatório e na autópsia^{14,35,53,72}.

A oclusão intestinal aguda do intestino delgado é responsável por uma taxa significativa de internamentos hospitalares em caráter de emergência e apresenta taxas de mortalidades médias de 5%^{11, 52}. Em alguns casos, também não há evidência de foco infeccioso, de alterações vasculares, de perfurações ou abscessos. Ainda assim, os pacientes desenvolvem quadros sépticos graves, às vezes fatais⁸⁷.

Translocação bacteriana é a passagem de microorganismos viáveis ou não-viáveis, e/ou de seus produtos, através da barreira intestinal, para a circulação sistêmica e órgãos à distância^{3,4,7,24,40,43,44,55,84}.

Quando as bactérias da flora intestinal, suas toxinas e/ou seus produtos ultrapassam a barreira intestinal e não são eliminadas pelo sistema imunológico, ocorre a liberação de moléculas mediadoras da resposta inflamatória^{8,38,45,48}. Citoquinas, eicosanóides, hormônios, fatores de crescimento, quimiotáticos e de diferenciação produzirão uma cascata de eventos que progressivamente, em determinadas situações clínicas e principalmente em pacientes idosos e imunossuprimidos, poderão levar à sepse, insuficiência de múltiplos órgãos e sistemas e a morte do paciente^{14,35,45,48,53}.

Tem-se tentado desenvolver métodos profiláticos, de atenuação ou que funcionem como tratamento contra a translocação bacteriana, protegendo a barreira intestinal em pacientes de alto risco^{27,45,50,62}. Nesse sentido, o uso de nutrientes específicos vem sendo progressivamente estudado^{16,62}. Ao uso de suplementos dietéticos ou de dietas especificamente elaboradas para a melhora da imunidade celular e do funcionamento do sistema imunológico denomina-se farmaconutrição^{1,62,84,90}.

A Glutamina é o aminoácido mais abundante no organismo^{1,62} e tem sido utilizada para tratamento de doenças da mucosa entérica^{5,21,26}. Porém, o exato papel da Glutamina como farmaconutriente na diminuição da translocação bacteriana, e na possível diminuição da bacteremia, da sepse e da insuficiência de múltiplos órgãos e sistemas ainda não estão completamente esclarecidos^{28,43,44}.

Ainda não foram estudados os efeitos da suplementação isolada de Glutamina comparada a outro aminoácido em um modelo experimental de oclusão intestinal.

Dessa forma, este estudo foi desenvolvido para avaliar o efeito da Glutamina sobre os índices de translocação bacteriana em um modelo experimental de oclusão intestinal.

1.1 Objetivos

- Avaliar o efeito da Glutamina sobre a translocação bacteriana em ratos submetidos à oclusão aguda do íleo terminal;
- Verificar se a Glutamina apresenta efeito protetor sobre a barreira intestinal em ratos submetidos à oclusão aguda do íleo terminal; e se essa proteção é órgão-específica.

II - REVISÃO DA LITERATURA

2 REVISÃO DA LITERATURA

Diferentes estudos clínicos ^{17,21,22,34,37,56,57,59,63,66,67} e modelos experimentais demonstraram a ocorrência de translocação bacteriana. Dentre os modelos experimentais recentemente utilizados destacam-se: choque hemorrágico ^{6,72}, cirrose em ratos ascíticos ⁸², isquemia mesentérica ^{27,49,88}, reperfusão após isquemia mesentérica ³⁶ e hepática ⁷³, injeção de endotoxina ¹⁸, transplante de intestino ⁸⁹, pancreatite aguda ²⁸, colite ²⁸, radioterapia ²⁶, icterícia obstrutiva ^{23,61,65,76}, queimadura ^{31,86}, uso de dieta enteral ⁸⁵ e parenteral ^{12,70}, aumento da pressão intrabdominal ²⁵, desnutrição ⁷⁵ e oclusão intestinal ^{2,12,75,87,88}.

Estudos clínicos e modelos experimentais têm sido propostos para evitar e/ou diminuir a translocação bacteriana. Dentre eles, destaca-se o suporte nutricional com a utilização de nutrientes como a Glutamina.

Nesta revisão serão apresentados estudos experimentais em modelos murinos que:

- ➡ utilizaram oclusão intestinal como fator gerador de translocação bacteriana;
- ➡ avaliaram a influência da Glutamina na translocação bacteriana e/ou os seus efeitos sobre a barreira intestinal.

DEITCH, BRIDGES, MA, MA, BERG & SPECIAN (1990) ¹⁹ realizaram estudo experimental com o objetivo de avaliar o índice de translocação bacteriana em camundongos submetidos a oclusão intestinal aguda. Dividiram os animais em três grupos. O primeiro foi constituído por animais que foram submetidos à exposição do íleo terminal e ceco, seguido de abertura do mesentério, e compressão ileal, por um período de três a cinco minutos, sem realização de oclusão. O segundo grupo foi constituído por animais que foram submetidos à ligadura do íleo terminal, um centímetro distal à válvula íleo-cecal. No terceiro grupo, a ligadura foi realizada a um centímetro da junção do ceco com o cólon ascendente. Um total de 196 animais foram utilizados, com um mínimo de 8 animais por grupo, que foram submetidos à eutanásia 4, 6, 12, 24 e 48 horas após o procedimento inicial. Amostras de sangue e dos linfonodos, baços e fígados foram enviadas para estudo microbiológico. Amostras do ceco, íleo e cólon ascendente foram enviadas para determinação da população bacteriana. Os resultados demonstraram que houve translocação bacteriana após 4 horas, fosse a ligadura proximal ou distal à válvula íleo-cecal. Inicialmente, ocorreu translocação bacteriana para o linfonodo e depois, para outros órgãos. Houve maior translocação bacteriana nos animais que sofreram oclusão intestinal e maiores índices entre aqueles submetidos à oclusão intestinal anterior a válvula íleo-cecal, em relação aos que foram submetidos à oclusão intestinal depois da válvula íleo-cecal. O número de bactérias viáveis recuperadas no sangue e nos órgãos foi maior no grupo submetido à oclusão intestinal, com 48 horas de evolução, sendo a bactéria mais encontrada *Escherichia coli*. Após 24 horas do período pós-operatório houve um grande aumento da população bacteriana no íleo terminal, observado nos animais submetidos à oclusão intestinal anterior a válvula íleo-cecal. Todos os animais morreram até o sexto dia do período pós-operatório, sendo que metade dos animais submetidos à oclusão intestinal

anterior a válvula íleo-cecal morreu até o quarto dia do pós-operatório e os camundongos submetidos à oclusão intestinal posterior a válvula íleo-cecal sobreviveram por período mais prolongado. Concluiu-se que a função da barreira intestinal é abolida em camundongos submetidos à oclusão intestinal e que o número de órgãos com cultura positiva e o número de bactérias viáveis recuperadas aumenta com o tempo de obstrução intestinal.

SPAETH, GOTTWALD, HAAS & HOLMER (1993)⁷⁰ realizaram estudo experimental com o objetivo de investigar se a Glutamina induziria um efeito protetor sobre a barreira intestinal, quando utilizada como suplemento da nutrição parenteral. Primeiramente, 30 ratas Cr1:CD BR foram divididas em três grupos, recebendo dietas isocalóricas, nas quais foram implantados previamente catéteres na veia Jugular Interna. O grupo controle recebeu água *ad libitum*, ração para ratos e soro fisiológico pelos catéteres. O segundo grupo recebeu alimentação parenteral, com solução de 3,5% de aminoácidos solúveis e 1,5% de uma solução de alanina-Glutamina. No terceiro grupo (controle), as ratas recebiam alimentação parenteral, somente com alanina. Elas foram mantidas alimentadas dessa forma, por sete dias e, a seguir, foi realizada a eutanásia dos animais. Os linfonodos mesentéricos foram enviados para estudo microbiológico. O ceco e o íleo terminal foram enviados para estudo quantitativo da população bacteriana, dosagem de IgA e estudo histológico da mucosa entérica. Secundariamente a concentração de alanina-Glutamina ou de alanina foi dobrada em 24 ratas Cr1:CD BR, que foram submetidas ao mesmo período de tratamento e mesmos procedimentos após recebimento da dieta. Os resultados demonstraram que os grupos que receberam nutrição parenteral tiveram translocação bacteriana e crescimento bacteriano superior ao controle. Em todos os grupos que receberam nutrição parental, foi observada uma atrofia similar da mucosa intestinal e

os valores médios de IgA também foram semelhantes. Concluiu-se que não se justifica a suplementação de Glutamina como uso rotineiro em solução de nutrição parenteral, podendo a mesma ser benéfica em pacientes criticamente enfermos.

XU, QI, THIRSTRUP, BERG & DEITCH (1993)⁸⁵ investigaram o efeito da Glutamina (30% do total de aminoácidos) sobre a blastogênese linfocitária e a indução de translocação bacteriana. Utilizaram ratos Sprague-Dawley divididos em três grupos. No primeiro grupo, os animais receberam dieta elementar contendo Glutamina, por um período de sete dias. No segundo grupo, os animais receberam dieta elementar sem Glutamina pelo mesmo período. No grupo controle, os animais receberam somente ração para ratos e água *ad libitum* também pelo mesmo período. Após o sétimo dia, foi realizada a eutanásia dos animais e seus órgãos foram enviados para cultura e estudo da população bacteriana. Blastogênese linfocitária foi induzida por mitógenos. Linfócitos esplênicos e do sangue periférico foram marcados com Trítio e analisados posteriormente por um contador de cintilação. Os resultados demonstraram que a suplementação de Glutamina não preveniu a translocação bacteriana, que foi limitada somente aos linfonodos mesentéricos. A Glutamina também não esteve associada com aumento na população bacteriana do ceco. A resposta a blastogênese por mitógenos nos animais que receberam Glutamina não foi superior em relação aos animais que não a receberam. Concluiu-se que a Glutamina não diminui a translocação bacteriana e não diminui a imunossupressão.

ZAPATA-SIRVENT, HANSBROUGH, OHARA, RICE-ASARO & NYHAN (1994)⁸⁶ realizaram estudo experimental em camundongos CF-1, com o objetivo de verificar o efeito de diversas composições dietéticas sobre a translocação bacteriana nos linfonodos mesentéricos. Os animais foram submetidos à queimadura de 32% da superfície corporal e no período pós-ressuscitação da queimadura foram divididos em diferentes

grupos, conforme a dieta que recebiam: ração para camundongos e água *ad libitum*, dieta enteral com pouco resíduo, dieta enteral hiperprotéica hipercalórica, dieta enteral com alta concentração de Glutamina (Alitraq[®], com 14.8 g/L de Glutamina) ou dieta enteral rica em fibras. Os resultados demonstraram que a mortalidade nos animais dos grupos que receberam nutrição enteral foi maior do que no grupo que não a recebeu, sendo que os animais que receberam dieta enteral com pouco resíduo foram os que tiveram maior mortalidade. A translocação bacteriana foi estatisticamente menor nos animais que não receberam dieta enteral (30,8%) e nos animais que receberam dieta enriquecida com Glutamina (31,3%), sendo intermediários nos animais que receberam fibra (44,82%). Concluiu-se que, comparado com outras dietas enterais, a dieta enteral enriquecida com Glutamina ou fibra tem um papel protetor contra a translocação bacteriana.

ZENI NETO (1994)⁸⁷ estudou a ocorrência de translocação bacteriana em ratos submetidos à oclusão intestinal do íleo terminal e do cólon descendente, com e sem isquemia e com isquemia isolada do íleo terminal. Foram utilizados 48 ratos Wistar machos, divididos em seis grupos com oito ratos cada. No grupo OIA, os ratos foram submetidos à oclusão do íleo em alça, com isquemia. No grupo OD foi realizada a oclusão do cólon descendente distal. Nos ratos do grupo ODA foi feita a oclusão do cólon descendente em alça com isquemia. No grupo Isquemia, foi feita ligadura dos vasos da arcada mesentérica do íleo terminal. Os ratos do grupo Controle foram submetidos à laparotomia com manipulação das alças intestinais. Os ratos do grupo OI foram submetidos à oclusão do íleo terminal. Todos os ratos foram submetidos à eutanásia 24 horas após a operação, sendo então coletado sangue para hemocultura e os linfonodos, baço, fígado e segmentos do ceco, jejuno, íleo e cólon foram enviados para estudo histológico e microbiológico. Os resultados demonstraram que as culturas de jejuno, íleo e ceco não apresentaram diferença significativa entre os grupos. Houve translocação

bacteriana em 33% dos ratos do grupo OI, em 100% no grupo OIA, em 50% no grupo OD, em 50% no grupo ODA, em 100% no grupo isquemia e em 50% dos ratos do grupo controle. Houve translocação bacteriana em 28,12% das culturas dos órgãos dos ratos do grupo OI, 78,12% das culturas do grupo OIA, 28,12% das culturas do grupo OD, 34% das culturas do grupo ODA, 69% das culturas do grupo Isquemia e 28,12% das culturas do grupo Controle. Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos com maior translocação nos ratos dos grupos OIA e Isquemia. O número de bactérias translocadas foi também significativamente maior nesses mesmos grupos. Concluiu-se que há translocação bacteriana em ratos com oclusão intestinal do íleo terminal e do cólon descendente a níveis semelhantes à laparotomia simples, com manipulação das alças intestinais, sendo a presença de isquemia do intestino delgado um fator que aumenta significativamente a translocação bacteriana.

BARK, KATOULI, LJUNGQUIST, MÖLLBY & SVENBERG (1995)⁶ estudaram a suplementação de dieta enteral enriquecida com Glutamina sobre a translocação bacteriana, em um modelo experimental de choque hemorrágico. Utilizaram ratos Sprague-Dawley que foram previamente submetidos a um período de 7 dias de alimentação com dieta suplementada com Glutamina a 4% ou com dieta suplementada com outros aminoácidos. Ambos os grupos receberam dieta isoprotéica e isocalórica e, após o período de alimentação, foram redivididos e submetidos a somente laparotomia, choque hemorrágico moderado ou choque hemorrágico grave. Após 24 horas foi realizada a eutanásia dos animais, e os linfonodos mesentéricos foram enviados para cultura e o sangue para análise bioquímica. Os resultados demonstraram que somente bactérias Gram-negativas foram observadas nas culturas dos linfonodos mesentéricos, sendo a *Escherichia coli* a bactéria mais encontrada. Os animais dos grupos que sofreram choque hemorrágico grave tiveram maior translocação bacteriana do que os que sofreram somente laparotomia,

porém não houve diferença entre os animais que receberam Glutamina e os animais que receberam outros aminoácidos durante o período inicial de alimentação. Concluiu-se que a suplementação de Glutamina não parece diminuir a translocação bacteriana para os linfonodos mesentéricos em ratos submetidos a choque hemorrágico.

AKÇAY, ÇAPAN, GÜNDOĞDU, POLAT & ÖREN (1996)² estudaram a translocação bacteriana em ratos Wistar submetidos à oclusão intestinal. Os animais foram divididos em grupo Controle, em que 16 ratos sofreram somente a laparotomia; grupo Obstrução Intestinal Simples, no qual 16 ratos foram submetidos à oclusão simples do íleo terminal a um centímetro da válvula íleo-cecal, com ligadura dos vasos mesentéricos; e grupo Obstrução Intestinal em Alça Fechada, com 16 animais sendo submetidos à ligadura do íleo terminal no mesmo local do grupo anterior e também a vinte centímetros da válvula íleo-cecal. Todos os grupos foram subdivididos posteriormente, de acordo com o tempo de sacrifício após a cirurgia para coleta de material. Os resultados demonstraram que no grupo Controle não houve translocação bacteriana. As alterações histológicas e o índice de translocação bacteriana dos linfonodos mesentéricos, fígados e baços foram maiores no grupo Obstrução Intestinal em Alça Fechada em relação ao grupo Obstrução Intestinal Simples e também em relação aos estudos histológicos e culturas do mesmo grupo colhidas 12 horas após. *Escherichia coli* foi a bactéria mais encontrada (48%). Concluiu-se que a obstrução intestinal causou translocação bacteriana e que esta tem direta correlação com o tempo de oclusão intestinal. A obstrução intestinal em alça fechada causou maior translocação bacteriana. Translocação bacteriana para fígado e baço ocorre depois da translocação bacteriana para o linfonodo mesentérico.

TORRES (1997)⁷⁵ realizou estudo experimental para avaliar a ocorrência de translocação bacteriana em ratos submetidos à oclusão intestinal e verificação da

capacidade de uma dieta imunoestimuladora em reduzir a translocação bacteriana nesses animais. Utilizou no estudo, 24 ratos Wistar divididos em três grupos. Os animais do grupo I (Imunomodulação) receberam uma dieta imunoestimuladora contendo Glutamina, Arginina e Ácidos Graxos de Cadeia Curta (Imunotril[®]). Os animais do grupo C (Controle) receberam ração padrão para ratos e os animais do grupo D (Desnutrição) receberam metade da oferta calórica da mesma ração do Grupo Controle. Após 7 dias do início do estudo todos os animais foram submetidos à ligadura do íleo terminal, realizando-se a eutanásia dos animais 18 horas a seguir. Segmentos dos baços, fígados e os linfonodos mesentérico foram enviados para estudo microbiológico e histológico. Os resultados demonstraram que as culturas dos baços, fígados e linfonodos mesentéricos foram positivas em 100% dos animais do grupo D, em 58,3% do grupo I e em 62,5% dos ratos do grupo C. As diferenças nas alterações histológicas foram mínimas entre os três grupos. Concluiu-se que a translocação bacteriana ocorre em ratos submetidos à oclusão intestinal e que o suporte nutricional com dieta imunoestimuladora é capaz de reduzir a incidência de translocação bacteriana em ratos com oclusão intestinal.

GENNARI & ALEXANDER (1997)³¹ estudaram os efeitos da arginina, Glutamina e da Dehidroepiandrosterona sobre a redução da suscetibilidade à infecção causada pela Prednisona em um modelo experimental de queimadura. Utilizaram fêmeas de camundongos BALB/C, que foram alimentados previamente por 14 dias, com dieta enriquecida com glicina (controle), e arginina e/ou Glutamina em concentrações que variaram de 2% a 4,5%. Em seguida, os animais receberam por cinco dias, Dehidroepiandrosterona (25mg/kg/dia) ou Prednisona (10mg/kg/dia). Antes de serem submetidos a injúria térmica, eles receberam por gavagem *Escherichia coli* marcada com¹¹¹ Índio. Os animais foram submetidos à queimadura de 20% da superfície corporal e quatro horas após foi realizada a eutanásia dos animais. Linfonodos mesentéricos, baços e

fígados foram enviados para cultura e detecção do radiosótoto. Os resultados demonstraram que a mortalidade foi menor nos animais que receberam Glutamina, arginina ou Dehidroepiandrosterona. A translocação bacteriana e de bactéria mensurada no detector de ¹¹¹Indio foi menor nos animais tratados com arginina, Glutamina ou arginina e Glutamina, ou que receberam Dehidroepiandrosterona do que nos animais que receberam Prednisona e/ou foram tratados com glicina. Concluiu-se que a alimentação suplementada com Glutamina, arginina ou ambos, bem como o tratamento com Dehidroepiandrosterona revertem a suscetibilidade à sepse intestinal causada pela Prednisona e que podem ser agentes potentes na prevenção de infecção em pacientes que usam corticóide.

FOITZIK, KRUSCHEWSKI, KROESEN, HOTZ, EIBL & BUHR (1999) ²⁸ estudaram o efeito da suplementação de Glutamina em dois modelos de lesão da barreira intestinal. Utilizaram ratos Sprague-Dawley que foram divididos em dois grupos, conforme a injúria a que eram submetidos. No grupo P, pancreatite aguda severa foi induzida pela infusão de Ceruleína intravenosa e de Ácido Glicodeoxicólico no ducto biliar comum; no grupo C colite severa foi induzida através da infusão intrarectal de Ácido Trinitrobenzenosulfônico. Em seguida, os animais foram redivididos em dois grupos, conforme o tipo de suporte nutricional que recebiam, suplementado com Glutamina (0.58g/kg/dia) ou glicina, iniciado 6 horas após a indução da pancreatite e 8 horas após a indução da colite. Após 48 horas foi realizada a eutanásia de alguns animais e segmentos colônicos foram enviados para estudo microscópico, do fluxo sanguíneo mesentérico, estudo eletrofisiológico do intestino delgado e da resistência da parede colônica ao fluxo de manitol. Após 96 horas, foi realizada a eutanásia do restante dos animais e segmentos dos linfonodos mesentéricos, baços, fígados e rins foram enviados para estudos histológicos e culturas. Os resultados demonstraram que no modelo de pancreatite a

suplementação de Glutamina aumenta significativamente a resistência transmucosa colônica, diminui o fluxo capilar e também o fluxo de manitol pelo epitélio. A mortalidade dos animais que receberam suplementação de Glutamina foi um terço menor do que naqueles que não a receberam. O número de culturas positivas foi de 33% nos animais que receberam suplementação de Glutamina e de 86% nos animais que não receberam suplementação de Glutamina. No modelo de colite, a suplementação de Glutamina não alterou esses parâmetros, exceto pela melhora do fluxo sanguíneo da mucosa colônica. Concluiu-se que a suplementação da dieta com Glutamina estabiliza a barreira mucosa em determinadas doenças, e diminui a translocação bacteriana na pancreatite aguda.

ERSIN, TUNCYUREK, ESASSOLAK, ALKANAT, BUKE, YILMAZ, TELEFONCU & KOSE (2000)²⁶ estudaram o efeito profilático e terapêutico da arginina e da Glutamina em um modelo de enterite pós-irradiação em ratos. Utilizaram 35 ratos Sprague-Dawley divididos aleatoriamente, em cinco grupos de sete animais cada, conforme o tipo de dieta oferecida antes ou após receberem irradiação de 1100 cGy por fonte convencional de raios-X. Os animais do grupo I receberam Glutamina (15g/dia) por 7 dias que precederam e 7 dias que sucederam a irradiação. Os animais do grupo II receberam arginina (50g/dia) por 7 dias que precederam e 7 dias que sucederam a irradiação. Os animais do grupo III receberam Glutamina (15ml/dia) por 7 dias que sucederam a irradiação, sendo-lhes dada água *ad libitum* e ração para ratos nos 7 dias que precederam a irradiação. Os animais do grupo IV receberam arginina (60 ml/dia) por 7 dias que sucederam a irradiação, água *ad libitum* e ração para ratos nos 7 dias que precederam a irradiação. Os animais do grupo V (controle) receberam água *ad libitum* e ração para ratos nos 7 dias que precederam e nos 7 dias que sucederam a irradiação. Após os 7 dias que se sucederam a irradiação, os animais foram submetidos a laparotomia e os linfonodos mesentéricos foram enviados para estudo microbiológico. Amostras de sangue foram

enviadas ao laboratório para dosagem sérica de Glutamina ou arginina, e segmentos de jejuno, íleo e colon foram enviados para estudo histológico. Os resultados demonstraram que a translocação bacteriana foi significativamente maior ($p < 0,005$) no grupo V em relação aos outros grupos. A contagem das vilosidades e tamanho foi significativamente maior em todos os grupos que receberam arginina ou Glutamina, em relação ao grupo V ($p < 0,05$ e $p < 0,0001$; respectivamente). Os níveis séricos de arginina e Glutamina nos grupos que as receberam também foram estatisticamente maiores do que no grupo V ($p < 0,05$). Concluiu-se que arginina e a Glutamina possuem um papel protetor da mucosa entérica após irradiação, porém administração prévia e posterior dos aminoácidos não oferece proteção adicional em relação à administração somente após a irradiação.

III - MATERIAL E MÉTODOS

3 MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo obteve aprovação da Comissão de Ética do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná e da Comissão de Ética do Setor de Ciências da Saúde da mesma Universidade, registrado em seu Banco de Pesquisas (BANPESQ) sob número 99006077 de 22 de junho de 1999.

As normas técnicas utilizadas neste trabalho, seguiram as orientações da Associação Brasileira de Normas Técnicas (NBR-6023) de 1989 e as Normas para Apresentação de Trabalhos da Universidade Federal do Paraná de 1994. Utilizou-se a *Nomina Anatomica* Veterinária de 1993.

3.1 Animais

Foram utilizados neste estudo 23 ratos Wistar, machos, adultos, com peso médio de 215 gramas, obtidos do Biotério do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná.

Os ratos foram mantidos no Centro de Pesquisas do Curso de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da Universidade Federal do Paraná, em condições ambientais constantes (com temperatura média de $22\pm 1^{\circ}$ C e ciclo dia/noite de 12 horas, controlados eletronicamente Cronomat[®], Mallory do Brasil, São Paulo) por um período mínimo de

sete dias antes do experimento. Durante esse período, tiveram livre acesso à água e à ração para ratos (NUVILAB-CR1[®], Nuvital, Curitiba, Paraná).

3.2 Grupos e Dietas

Após o período de aclimação, os ratos foram pesados e divididos, por sorteio, em dois grupos de acordo com o tipo de aminoácido que receberiam durante esta fase do experimento.

Os dois grupos foram constituídos da seguinte maneira:

- GRUPO GLU – constituído por 11 animais;
- GRUPO GLI (Controle) – Constituído por 12 animais.

Todos os animais do estudo receberam a mesma quantidade diária de proteínas e de calorias por um período de sete dias (dias 1-7), conforme o estudo prévio de TORRES (1997)⁷⁵. Receberam ainda 60 Kcal/dia/rato de ração para ratos (Nuvilab-Cr1[®], Nuvital, Curitiba, Paraná), água *ad libitum* e dose diária de aminoácido.

A composição da ração utilizada está apresentada na Tabela 1. Essa ração fornece 3 Kcal/g.

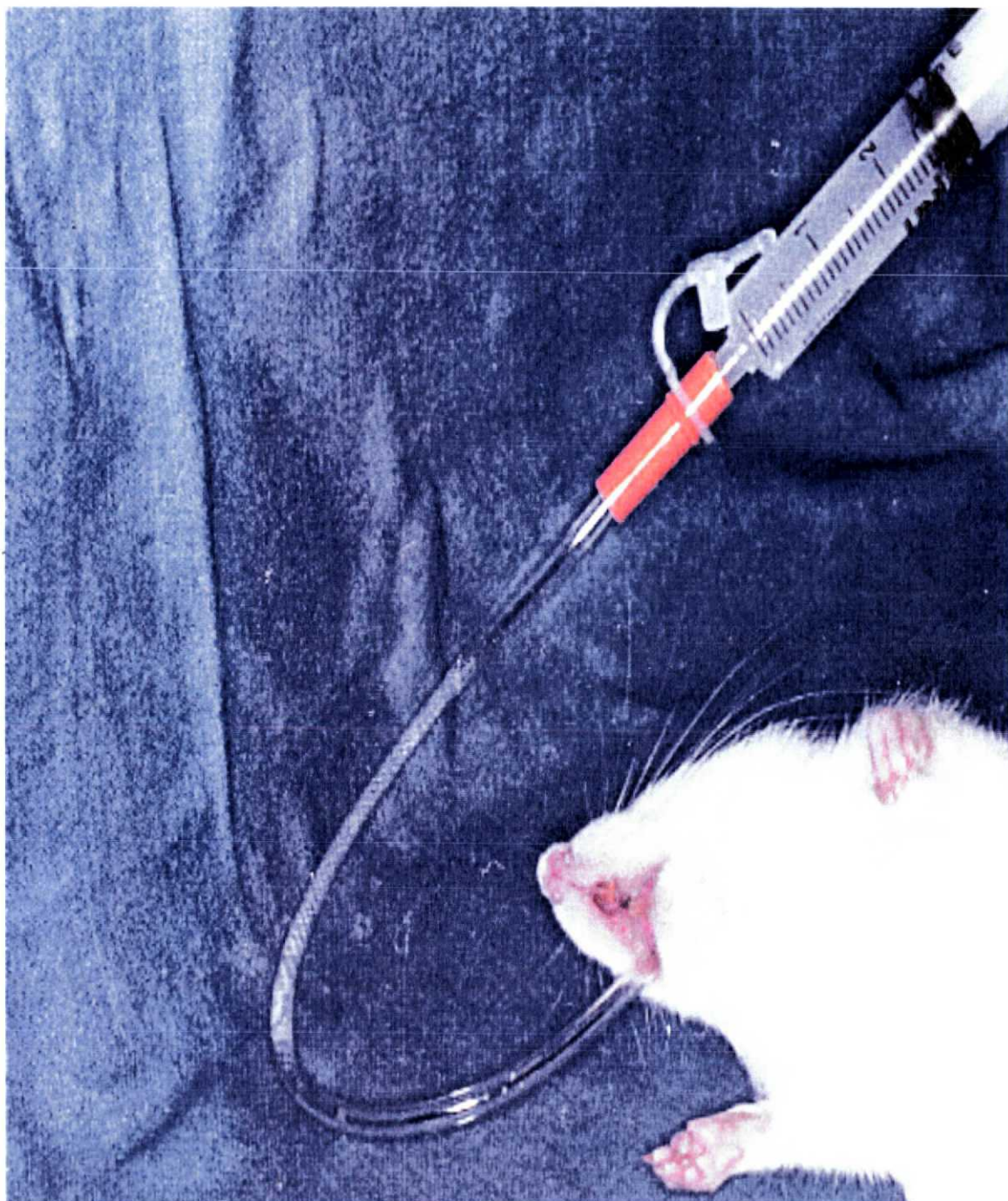


FIGURA 1 - Administração do aminoácido.

Tabela 1 - Composição da ração para ratos.

Proteína *	22,0%
Extrato etéreo *	3,0%
Matéria mineral *	9,0%
Matéria fibrosa *	6,0%
Cálcio *	1,4%
Fósforo *	0,7%
Aminoácidos adicionados	
Metionina *	300 mg
Lisina *	100 mg
Calorias **	3Kcal

* Composição por quilo de ração.

** Composição por grama de ração

O aminoácido foi administrado na dose de 1,5g/kg/dia e diferiu conforme o grupo ao qual pertencia o rato.

Os animais do Grupo GLU receberam, diariamente e por 7 dias, L-Glutamina (Glutamina[®], Ajinomoto Interamericana do Brasil, São Paulo-SP) a 5% na dose de 1,5g/kg/dia injetada em dose única através de sonda orogástrica número 8, de dez centímetros de extensão e dois milímetros de diâmetro, água *ad libitum* e 20 gramas de ração para ratos.

Os animais do Grupo GLI receberam, diariamente e por 7 dias, Glicina (Glicina[®], Ajinomoto Interamericana do Brasil, São Paulo-SP) a 5% na dose de 1,5g/kg/dia injetada em dose única através de sonda orogástrica número 8, de dez centímetros de extensão e dois milímetros de diâmetro, água *ad libitum* e 20 gramas de ração para ratos.

Diariamente, os animais foram pesados e durante a administração do aminoácido (Figura 1) foram sedados pela inalação de éter etílico comercial.

3.3 Preparo do Inóculo

O inóculo utilizado foi obtido na Seção de Bacteriologia do Serviço de Análises Clínicas do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná.

Suspensão de *Escherichia coli* ATCC (*American Type Culture Collection*) 25922 foi cultivada em caldo de peptona e levedura até o final da fase exponencial de seu crescimento, em 16 horas. Após o prazo de crescimento inicial as bactérias foram lavadas por três vezes em solução fisiológica tamponada e centrifugadas a 1700 rotações por minuto, durante 10 minutos. Em seguida, foram novamente suspensas nessa mesma solução, até que se ajustasse por análise espectrofotométrica com absorbância de 540 nanômetros, à sua concentração final em aproximadamente 10^9 UFC/ml da solução. O fenótipo final da suspensão utilizada foi: Lactose (+), Glicose (+), Lisina (+), produtora de gás (+), Indol (+), Ornitina (+), mobilidade (+), Citrato (-), Rhamnose (+).

3.4 Técnica Operatória e Inoculação de Bactérias

No oitavo dia de estudo (dia 8), os ratos foram submetidos à anestesia intraperitoneal com Hidrato de Cloral a 3% na dose de 10ml/kg e foram pesados. Em seguida, foi realizada tricotomia ampla do abdômen e terço inferior do tórax. Os animais foram fixados em decúbito dorsal, com fita adesiva, na mesa de cirurgia experimental para ratos. Anti-sepsia foi realizada com Polivinil-pirrolidona-iodo e aplicaram-se campos indiretos estéreis.

Utilizou-se incisão mediana suprapúbica de cinco centímetros de extensão com abertura de todos os planos da parede abdominal. Inicialmente, foi realizada oclusão do

íleo terminal, um centímetro proximalmente a seu implante no ceco, com fio monofilamentar de nylon 4.0, sem lesão da arcada marginal dos vasos mesentéricos (Figura 2).

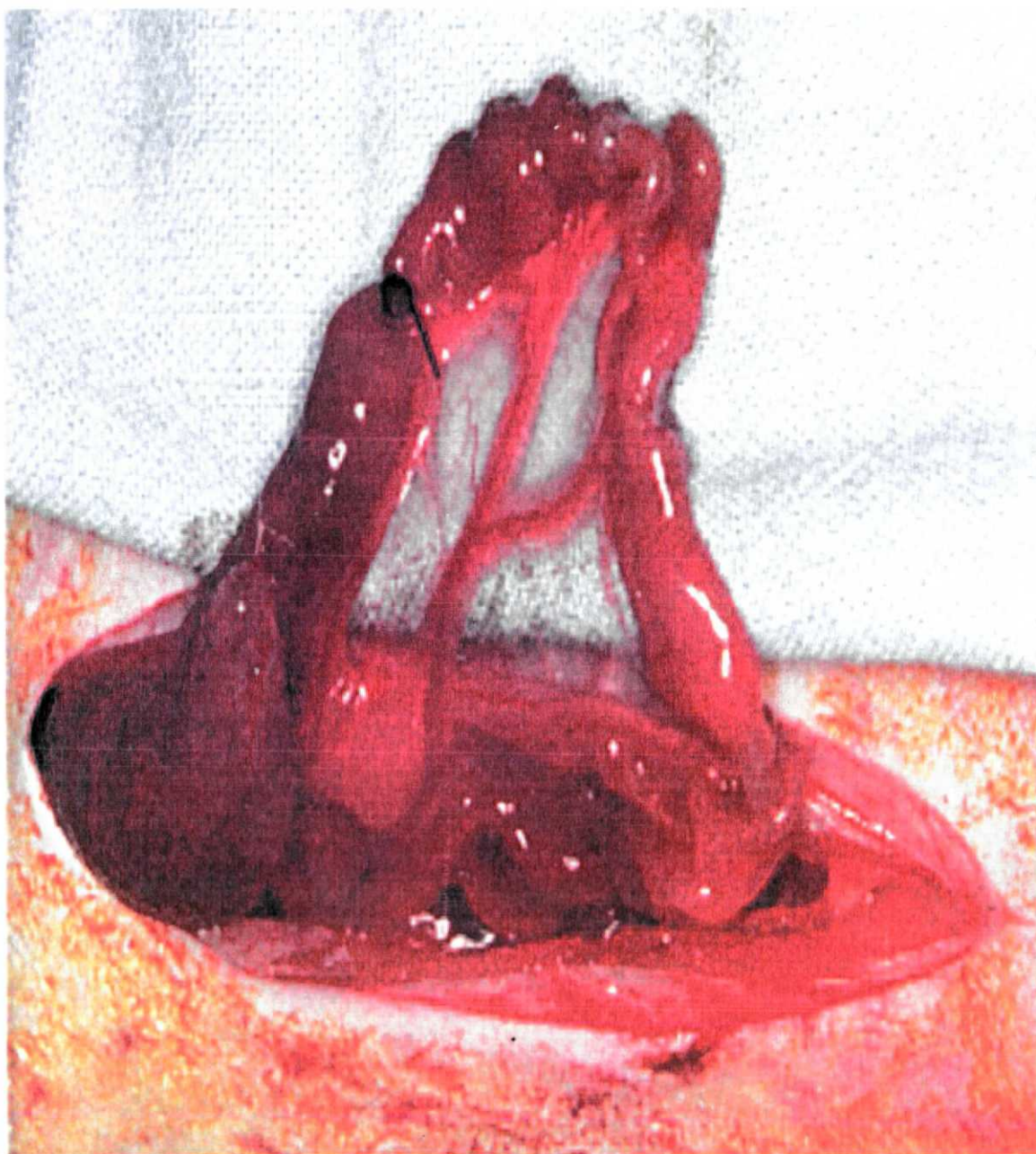


FIGURA 2 - Oclusão do íleo terminal.

Em seguida, foi inoculado um mililitro da suspensão de *Escherichia coli* ATCC 25992, dois centímetros proximalmente à ligadura do íleo terminal, através de uma agulha de 13 x 4,5 milímetros em um ângulo de aproximadamente 30° de inclinação em relação ao intestino delgado (Figura 3).

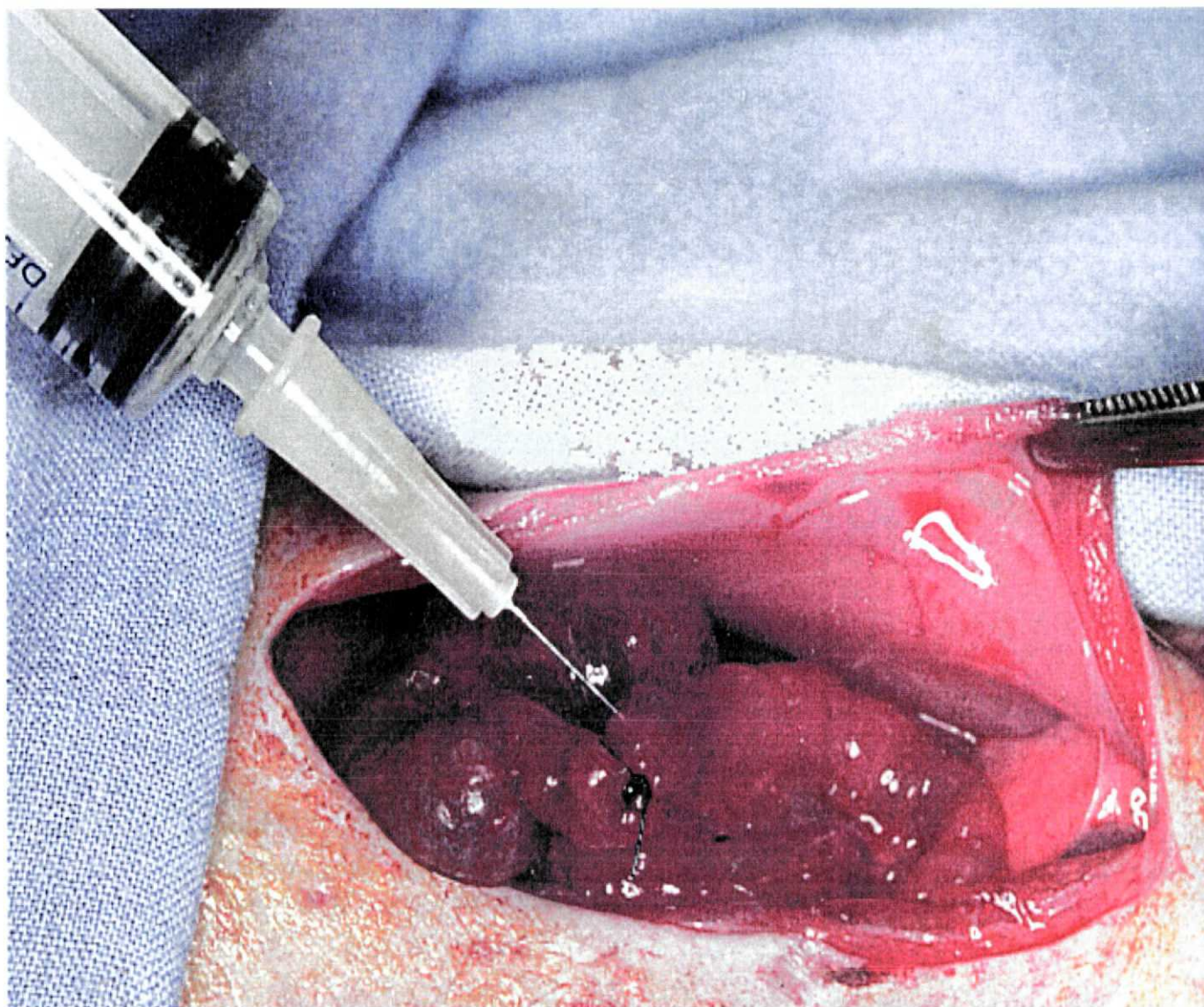


FIGURA 3 - Inoculação da suspensão de *Escherichia coli* ATCC 25992 no íleo terminal.

O local da injeção foi observado por 30 segundos para verificação de possível extravasamento da suspensão pelo local de introdução da agulha. Caso houvesse extravasamento, o animal seria excluído do experimento.

Com o animal ainda anestesiado inoculava-se o aminoácido em estudo (Glutamina ou glicina, conforme o grupo ao qual pertencia o rato).

Os ratos foram mantidos em gaiolas separadas, cobertos e aquecidos e foram observados até que se verificasse que se encontravam ativos nas gaiolas.

Após a celiotomia os procedimentos foram idênticos nos dois grupos.

3.5 Coleta de Material e Eutanásia

No nono dia do experimento (dia 9) e após 24 horas da realização da oclusão intestinal e da inoculação da suspensão de *Escherichia coli* ATCC 25992, os ratos foram anestesiados com éter etílico comercial. Aplicou-se Polivinil-pirrolidona-iodo na parede abdominal anterior, sobre a ferida cirúrgica e campos indiretos estéreis foram posicionados. A celiotomia foi realizada através de incisão abdominal mediana ampla, estendendo-se a incisão prévia até o esterno do animal.

Inicialmente, realizou-se ampla inspeção da cavidade peritoneal, onde foi verificado se havia a presença de exsudato, sangue, fezes ou extravasamento do local de inoculação do aminoácido. Previamente a coleta de material todos os órgãos foram inspecionados e suas respectivas alterações macroscópicas registradas.

Após a inspeção, sob técnica asséptica, realizou-se a exposição e punção da Veia Cava Inferior, com *Butterfly* número 21 e coleta de um mililitro de sangue colocado em meio de cultura para realização de hemocultura.

Em seguida, o linfonodo mesentérico foi retirado inteiro. Seguiram-se a retirada de fragmentos de dois por dois centímetros do baço e do fígado. Após realização de incisão de quatro centímetros no diafragma, com tesoura de Metzembaun, um fragmento de dois por dois centímetros da base pulmonar esquerda também foi retirado. Todas as amostras foram retiradas com jogos separados de pinças e tesouras.

As amostras foram acondicionadas individualmente em placas de Petri e enviadas ao laboratório para estudo microbiológico na Seção de Bacteriologia do Serviço de Análises Clínicas do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, onde foram processadas mediante técnica descrita a seguir.

A eutanásia do animal foi realizada pela inalação de éter etílico comercial.

3.6 Estudo Microbiológico

No Setor de Bacteriologia do Serviço de Análises Clínicas do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, o linfonodo mesentérico, fragmentos do baço, fígado e pulmão esquerdo foram separadamente macerados com trituradores de tecido estéreis (Laborglas, São Paulo-SP), sob técnica asséptica em fluxo laminar.

Em seguida, as amostras foram semeadas em alíquotas de 0,01 mililitro (com alça calibrada de 1:100), em placas de Petri, nos meios Ágar-Sangue e Ágar-Mac Conkey. Os meios semeados eram incubados por 24 a 48 horas em estufa a 36°C. As amostras para hemocultura, com um mililitro de sangue, foram coletadas em nove mililitros de caldo tríplico de soja, semeadas em placas de Petri e incubadas por 3 dias a 36°C. Todas as amostras foram inspecionadas diariamente para verificação da existência ou não de crescimento bacteriano. Todas as contagens das placas de Petri foram avaliadas em duplicata e o valor utilizado foi positivo ou negativo, respectivamente, segundo o

crescimento ou não de colônias de *Escherichia coli* com o mesmo fenótipo da suspensão das bactérias que foram previamente injetadas na luz do íleo terminal.

3.5 Análise Estatística

Entre os grupos das variáveis dos pesos dos ratos, foi utilizado o teste t de Student para a comparação da média entre os grupos.

Para a comparação dos índices de translocação bacteriana entre os grupos foi utilizado como medida o número de órgãos com translocação bacteriana por rato em cada grupo. Foram considerados as hemoculturas, os linfonodos mesentéricos e os fragmentos dos baços, fígados e pulmões, de modo que os números poderiam variar de 0 a 5 para cada rato, perfazendo-se um total de 55 amostras para o Grupo GLU e de 60 amostras para o grupo GLI.

O teste para diferença entre duas proporções foi utilizado para a comparação dos grupos e para a identificação das diferenças entre os grupos.

Utilizou-se o *software Statistica* para cálculo das médias, desvios padrões, proporções e níveis de significância entre os grupos.

O nível de significância considerado foi de 5% ($p < 0,05$).

IV - RESULTADOS

4 RESULTADOS

Os ratos dos dois grupos do experimento permaneceram ativos durante todo o período de observação no laboratório e não foram observados animais doentes durante o experimento.

Durante os dias de administração dos nutrientes, os animais estudados recuperaram-se satisfatoriamente da sedação com éter etílico, transcorrendo sem intercorrências e com tempo médio semelhante entre ambos os grupos.

Todos os animais sobreviveram ao ato operatório e recuperaram-se plenamente da anestesia, injeção de nutriente durante o período anestésico e injeção da suspensão de *Escherichia coli* ATCC 25992.

Não foram observadas alterações de comportamento ou inatividade, sinais de hemorragia, evisceração ou de infecção da ferida após a realização da oclusão intestinal. Todos os animais sobreviveram às 24 horas que se seguiram à oclusão, antes do sacrifício.

4.1 Peso Corporal dos Ratos

A média do peso corporal dos animais do grupo GLU, no início do experimento, foi 234,27 gramas. A média do peso corporal dos animais do grupo GLI, no início do experimento, foi 197,91 gramas. A média do peso corporal dos animais do grupo GLU, no

final do experimento, foi 215,72 gramas. A média do peso corporal dos animais do grupo GLI no final do experimento foi 185,08 gramas.

A variação do peso, em gramas, durante o experimento, dos animais do grupo GLU, está apresentada no Gráfico 1. A variação do peso, em gramas, durante o experimento, dos animais do grupo GLI, está apresentada no Gráfico 2.

A média dos pesos, em gramas, nos dias iniciais e finais do experimento, dos animais de ambos os grupos estão apresentadas na Tabela 2.

Gráfico 1 – Variação do peso corporal, em gramas, dos animais do Grupo GLU (n=11).

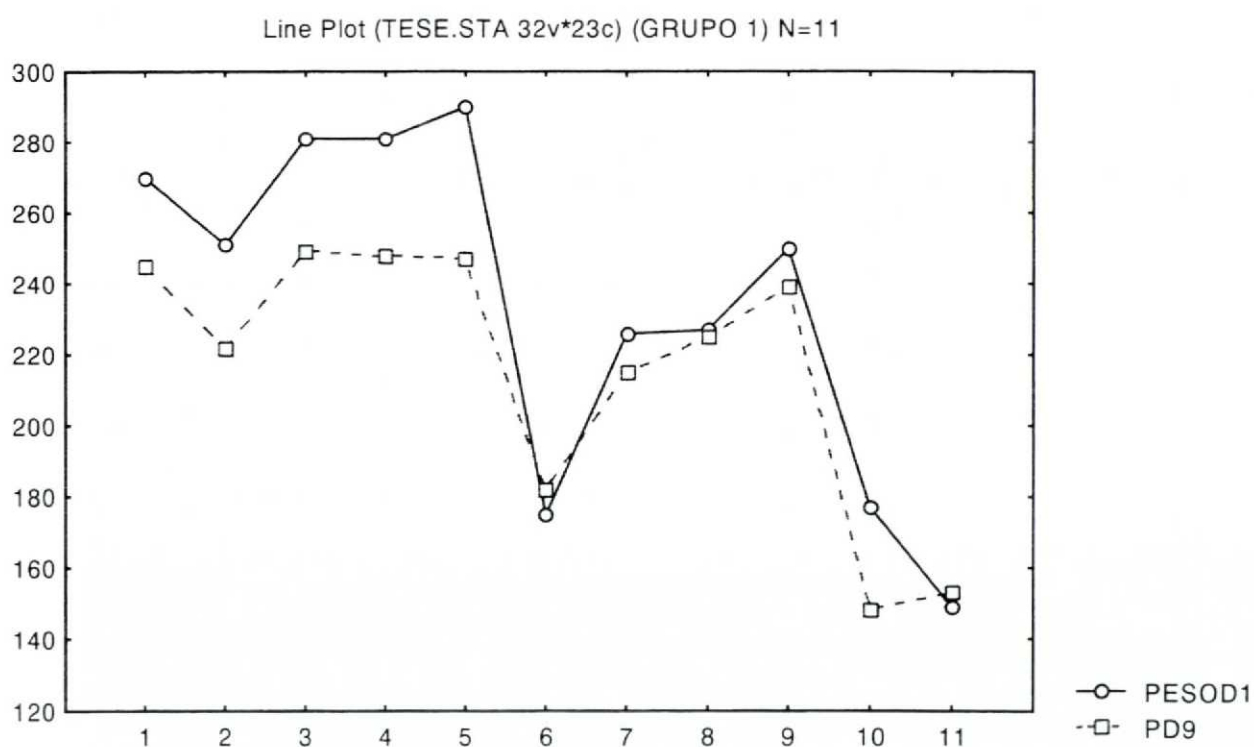
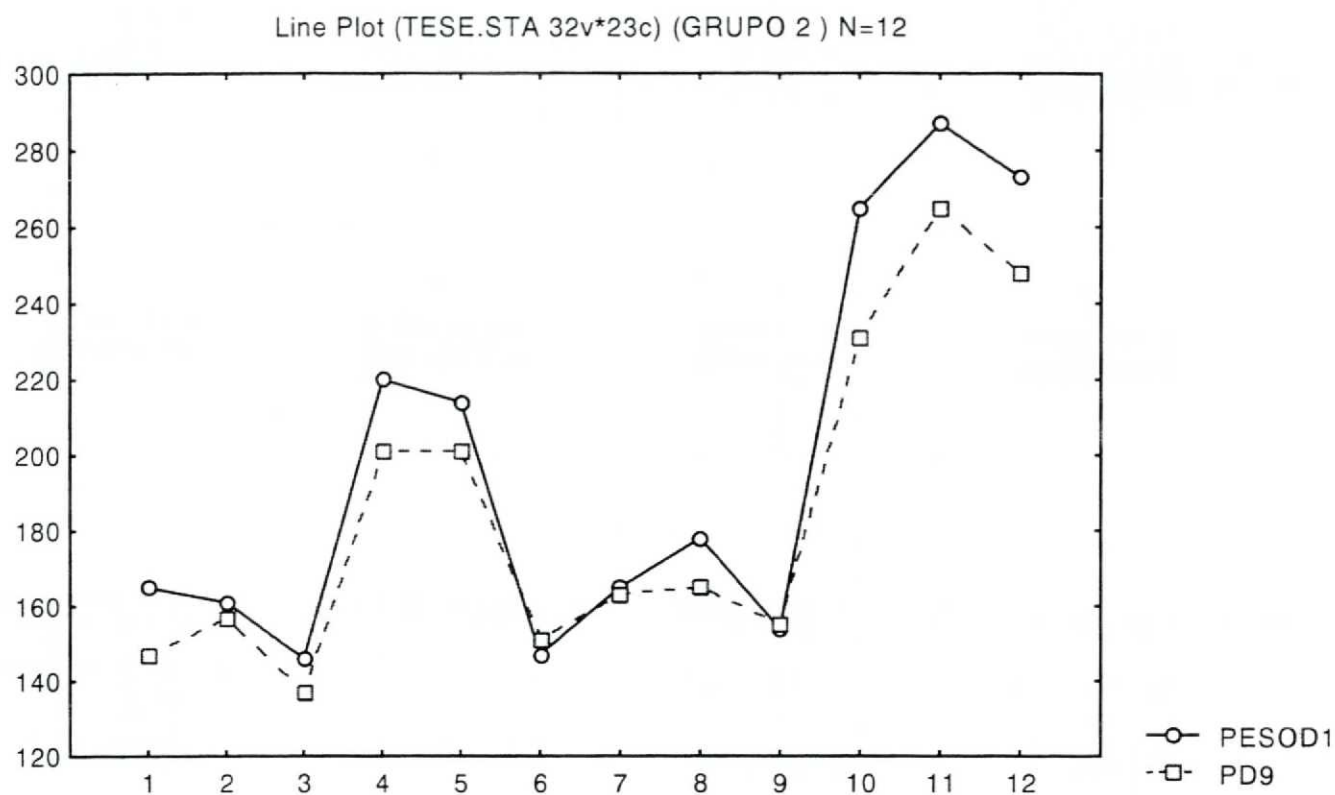


Gráfico 2 – Variação do peso corporal, em gramas, dos animais do Grupo GLI (n=12).**Tabela 2** - Média dos pesos dos ratos, em gramas, nos dias iniciais e finais do experimento.

Peso	n	Peso inicial (Média ± DP)	Peso final (Média ± DP)	p
GLU	11	234,27 ± 48,44	215,73 ± 37,83	p>0,09
GLI	12	197,92 ± 52,19	185,08 ± 43,14	p>0,08

GLU = Grupo Glutamina
GLI = Grupo Glicina

N = número de animais
DP=Desvio Padrão

Não houve diferença entre os pesos iniciais dos animais dos dois grupos, nem entre os pesos finais. Ambos os grupos também apresentaram semelhante variação de peso entre os dias iniciais e finais do experimento e semelhante peso relativo.

Foi observada uma queda no peso final dos animais em relação ao peso inicial ($p < 0,001$). Não houve relação direta entre queda no peso e o grupo dos animais em estudo ($p = 0,32$), ocorrendo queda de peso semelhante em ambos os grupos.

4.2 Ingesta Líquida e Calórica

No final dos sete dias iniciais do experimento, não houve excesso de ração encontrada em nenhuma das gaiolas dos animais estudados de ambos os grupos. A ingestão de água foi livre, não tendo sido aferida diariamente, sendo desprezada para fins de análise.

4.3 Cultura dos Órgãos

Os resultados das culturas de todos os órgãos dos animais de ambos os grupos estão apresentados na Tabela 3 e os resultados das culturas dos linfonodos mesentéricos, baços, fígados, pulmões e das hemoculturas de ambos os grupos encontram-se respectivamente apresentados nas Tabelas 4, 5, 6, 7, e 8.

Tabela 3 – Resultado das culturas de todos os órgãos.

Grupo	n	Positivas	%	Negativas	%	Média
GLU	55	36	65,45	19	34,55	2,89
GLI	60	52	86,67	8	13,33	4,33

* $p= 0,027$ ($p<0,05$)

GLU = Grupo Glutamina

GLI = Grupo Glicina

n = Número total de culturas dos órgãos e hemoculturas

A análise dos resultados das culturas de todos os órgãos demonstrou uma menor percentagem de positividade nas culturas dos animais do Grupo GLU (65,45%) em relação as culturas dos animais do Grupo GLI (86,67%), sendo esta diferença estatisticamente significativa ($p<0,05$).

Tabela 4 – Resultado das culturas dos linfonodos mesentéricos.

Grupo	N	Positivas	%	Negativas	%
GLU	11	11	100	0	0
GLI	12	12	100	0	0

* $p= 1$ ($p>0,05$)

GLU = Grupo Glutamina

GLI = Grupo Glicina

n = Número de cultura dos linfonodos mesentéricos

A análise dos resultados das culturas dos linfonodos mesentéricos demonstrou crescimento de *Escherichia coli* em todas as amostras de ambos os grupos. Dessa maneira, ambos os grupos foram idênticos em relação a essa variável ($p=1$).

Tabela 5 – Resultado das culturas dos baços.

Grupo	N	Positivas	%	Negativas	%
GLU	11	7	63,64	4	36,36
GLI	12	10	83,33	2	16,67

* $p= 0,3$ ($p>0,05$)

GLU = Grupo Glutamina

GLI = Grupo Glicina

n = Número de culturas dos baços

A análise dos resultados das culturas dos baços demonstrou menor percentagem de positividade nas culturas dos animais do Grupo GLU (63,64%) em relação as culturas dos animais do Grupo GLI (83,33%), sendo essa diferença não estatisticamente significativa ($p>0,05$).

Tabela 6 – Resultado das culturas dos fígados.

Grupo	n	Positivas	%	Negativas	%
GLU	11	7	63,64	4	36,36
GLI	12	11	91,67	1	8,33

* $p= 0,11$ ($p>0,05$)

GLU = Grupo Glutamina

GLI = Grupo Glicina

n = Número de culturas dos fígados

A análise dos resultados das culturas dos fígados demonstrou menor percentagem de positividade nas culturas dos animais do Grupo GLU (63,64%) em relação as culturas dos animais do Grupo GLI (91,67%), sendo essa diferença não estatisticamente significativa ($p>0,05$).

Tabela 7 – Resultado das culturas dos pulmões.

Grupo	n	Positivas	%	Negativas	%
GLU	11	5	45,45	6	54,55
GLI	12	8	66,67	4	33,33

* $p= 0,3$ ($p>0,05$)

GLU = Grupo Glutamina

GLI = Grupo Glicina

n = Número de culturas dos pulmões

A análise dos resultados das culturas dos pulmões demonstrou menor percentagem de positividade nas culturas dos animais do Grupo GLU (45,45%) em relação as culturas dos animais do Grupo GLI (91,67%), sendo essa diferença não estatisticamente significativa ($p>0,05$).

Tabela 8 – Resultado das hemoculturas.

Grupo	n	Positivas	%	Negativas	%
GLU	11	6	54,55	5	45,45
GLI	12	11	91,67	1	8,33

* $p= 0,16$ ($p>0,05$)

GLU = Grupo Glutamina

GLI = Grupo Glicina

n = Número de hemoculturas

A análise dos resultados das hemoculturas demonstrou menor percentagem de positividade nas culturas dos animais do Grupo GLU em relação as culturas dos animais do Grupo GLI, sendo essa diferença não estatisticamente significativa ($p>0,05$).

4.4 Achados Macroscópicos

Não houve diferença nos achados macroscópicos, após 24 horas da realização da oclusão intestinal, entre os animais de ambos os grupos. Foram evidenciados discreto

bloqueio de alças intestinais sobre a área ocluída, hiperemia localizada até aproximadamente cinco centímetros a montante da área ocluída, grande edema nesse local e sobre a área hiperemiada e grande distensão das alças do intestino delgado. Não se evidenciaram sinais de perfuração do íleo terminal, fistula, ulceração e exsudato, ou presença de sangue ou fezes na cavidade peritoneal.

A inspeção dos órgãos que foram coletados para estudo microbiológico, não revelou achados macroscópicos evidentes, com exceção dos linfonodos mesentéricos, que se apresentavam edemaciados, endurecidos e ora hipocorados ora discretamente hiperemiados. Porém, estas foram constantes entre todos os animais, independente do grupo a que pertenciam.

V - DISCUSSÃO

5 DISCUSSÃO

BERG (1995) ⁷ identificou os três mecanismos primários que promovem translocação bacteriana: hipercrecimento bacteriano, deficiência imunológica do hospedeiro e hiperpermeabilidade mucosa e/ou lesão da barreira intestinal. Esses mecanismos podem atuar isolada ou sinergicamente na produção da translocação bacteriana ^{7,20,42,43,72}. Acredita-se que na patogênese da translocação bacteriana ocorrem vários estágios de acordo com o envolvimento de um ou mais dos seus mecanismos promotores ⁷. Dessa maneira, no primeiro estágio, com o hipercrecimento da população bacteriana, os patógenos chegam até os linfonodos mesentéricos. Em um segundo estágio, caso haja lesão da barreira intestinal, os patógenos alcançam órgãos a distância como baço, fígado, pulmões e rins. No terceiro estágio, se houver uma deficiência imunológica do hospedeiro, os patógenos atingem a circulação sanguínea, podendo nessa fase, gerar sepse, insuficiência de múltiplos órgãos e morte do paciente ⁷.

Modelos murinos vêm sendo desenvolvidos com a intenção de estudar especificamente os mecanismos promotores da translocação bacteriana ^{7,16} e também as vias pelas quais as bactérias presentes na luz entérica atingem os órgãos à distância e a circulação sanguínea ^{3,79,80}.

O rato é o animal mais freqüentemente utilizado como modelo em estudos de translocação bacteriana ^{2,13,26,28,47,58,61}. É um animal de fácil manipulação, aquisição, transporte e acondicionamento. O rato tem regime alimentar rudimentar. Dessa forma,

alterações dietéticas podem ser introduzidas facilmente, bem como todos os parâmetros sob análise no estudo são facilmente observáveis.

Os exatos trajetos pelos quais as bactérias presentes na luz entérica ultrapassam a barreira intestinal e atingem os órgãos à distância e a circulação sangüínea não estão totalmente evidenciados^{3,29,43,79,80}. Bactérias da flora intestinal já foram encontradas nos espaços intercelulares³. Há evidências da penetração bacteriana via transcelular, através dos complexos juncionais do epitélio intestinal, das placas de Peyer, do ápice das vilosidades e dos macrófagos⁷⁹. A possibilidade da ocorrência de translocação bacteriana por vias consideradas paracelulares foi sugerida baseada na migração transmucosa, na migração retrógrada das bactérias entéricas para o pulmão, na migração transmural direta através da parede intestinal⁸⁰ e na migração bacteriana direta para os linfonodos mesentéricos e/ou fígado, através dos vasos sangüíneos e/ou linfáticos³. Deve sempre ser considerado também, que múltiplas vias podem existir e que estas, podem provocar translocação bacteriana isolada ou associadamente^{43,79,80}.

O modelo experimental adotado no presente estudo visou a utilização de um modelo factível, simples, facilmente reproduzível, barato, rápido e que gerasse translocação bacteriana, em uma situação comum dentre as emergências cirúrgicas, para que se pudesse realmente avaliar o efeito da Glutamina sobre os índices de translocação bacteriana.

Dessa maneira, optou-se pelo modelo animal de oclusão intestinal, já que comprovadamente ela é de simples e rápida execução, é facilmente reproduzível e gera altos índices de translocação bacteriana^{61,75,86,87}.

A *Escherichia coli* é descrita como a bactéria mais encontrada nas culturas dos estudos de translocação bacteriana^{4,19} e também a mais relacionada com sepse e Insuficiência de múltiplos órgãos^{56,72}. É um microorganismo Gram-negativo da

microflora humana e dos roedores⁵⁴, apresentando diferentes grupos e tipos sorológicos, identificados por seus antígenos O (somático) e H (flagelar)⁵⁴. Atualmente, são conhecidos 170 antígenos O e 50 antígenos H, sendo a identificação de grupos e tipos restrita somente a doenças específicas⁵⁴. No presente estudo, as características do fenótipo da *Escherichia coli* foram testadas em todas as placas de todas as amostras enviadas ao laboratório para estudo microbiológico. Não se pode afirmar com certeza que as bactérias recuperadas foram as mesmas inoculadas. Porém, pelos resultados observados, a suspeita pode ser considerada extremamente alta. A ausência de bactérias nos tecidos dos animais que receberam injeção intraluminal de solução salina⁶¹ salienta veementemente a hipótese anterior.

Modelos experimentais que inocularam suspensão bacteriana utilizaram injeção via venosa²³, intraperitoneal¹⁸ ou gastrogavagem^{31,65}. O modelo de inoculação bacteriana aqui utilizado foi modificado de ROCHA (1999)⁶¹, tendo como objetivo induzir a máxima translocação bacteriana da suspensão de *Escheria coli* ATCC 25992 em estudo, para que se pudesse aferir com maior confiabilidade o efeito da Glutamina. Assim, foi escolhido o modelo experimental de oclusão intestinal associado à inoculação de suspensão de *Escheria coli* ATCC 25992 proximalmente à ligadura do íleo terminal, por ser aquele que gerou os maior translocação bacteriana durante os experimentos que precederam o presente estudo.

O modelo experimental deste estudo demonstrou extrema eficácia para a comparação entre os grupos submetidos a diferentes suplementos de aminoácidos, atingindo plenamente o propósito para o qual foi designado, causando translocação bacteriana em 100% dos animais.

Vale lembrar, que as diferenças morfológicas e funcionais entre animais e seres humanos, implicam em restrições das conclusões deste experimento para aplicabilidade clínica direta e que a extrapolação destes resultados seria, no mínimo, leviana.

Para a comparação dos grupos em relação à ingesta protéica e calórica diária, permitiu-se acesso oral a dieta regular de ratos e água *ad libitum*. Ambos os grupos receberam dieta isoprotéica e isocalórica durante o período de 7 dias que precedeu a realização de oclusão intestinal e inoculação da suspensão de *Escherichia coli*.

Estudo de dietas e farmaconutrição que utilizaram um período de pré-alimentação de 7 dias, demonstraram que foi suficiente para se verificar possíveis alterações de parâmetros nutricionais e imunológicos^{6,71,75,85}. Trabalhos prévios realizados no Departamento de Cirurgia da Universidade Federal do Paraná demonstraram a ocorrência de altos índices de translocação bacteriana, após um período de oclusão intestinal de 24 horas^{12,75,87,88}.

A administração por via orogástrica, sob sedação do aminoácido em estudo, é pouco utilizado na literatura, sendo que se prefere administrar a dieta estudada, diluída na água dada aos animais²⁶ na ração dos animais^{6,31,75}. Porém, para a administração da dose correta de Glutamina, seria necessário que os animais ingerissem toda a dieta diariamente ou toda água com o aminoácido diluído. Glutamina é um aminoácido instável e que possui baixa solubilidade, o que faz com que a solução se precipite em poucos minutos. Se os animais não ingerirem toda ração que lhes foi oferecida ou houver precipitação do aminoácido, a dose previamente calculada não é administrada. Na prática clínica diária, essa situação é facilmente minimizada com a simples agitação do frasco que contém o aminoácido, podendo a dose total do aminoácido e o tempo de administração, serem ajustados conforme as preferências pessoais do médico, nutricionista e do paciente. Porém, em estudos experimentais, a troca da solução em

intervalos curtos, que é o artifício mais comumente utilizado, dificulta a prática do experimento e torna a dose administrada a cada animal provavelmente imprecisa. Por outro lado, a potencial injúria causada pela inalação de éter etílico e introdução de sonda com distensão gástrica aguda após injeção da solução de aminoácido e suas possíveis complicações não podem ser omitidas. No presente estudo, optou-se pela inoculação via orogástrica para que se tivesse certeza absoluta de que todos os animais estavam recebendo a mesma dose de aminoácido, sendo administrada com o menor tempo de sedação possível, não se observando complicações diretamente relacionadas a essa administração.

Em relação à dose de aminoácido utilizado, optou-se por uma diferente da comumente utilizada na literatura^{6,26,31,51,84}, já que os mesmos fatores que causam a precipitação do aminoácido no frasco de água do animal, geram também a precipitação nas paredes da sonda orogástrica, causando dessa forma, perda aproximada de um terço da solução do aminoácido durante a injeção (estudos previamente realizados). Aliado a isso, também se sabe que é necessário um consumo de altas doses de Glutamina em estados hipercatabólicos⁸⁴ para que se evite atrofia da mucosa entérica em ratos⁵¹.

No presente estudo, os animais de ambos os grupos apresentaram semelhante peso inicial, peso final, variação do peso corporal diário (Gráficos 1 e 2), média de peso (Tabela 2) e peso relativo. Houve uma perda final de peso em ambos os grupos sem diferença estatisticamente significativa entre eles ($p=0,32$). Dados semelhantes foram encontrados por TORRES (1997)⁷⁵ CAO e cols (1998)¹³ quando realizaram estudos comparando efeito de diferentes dietas sobre a translocação bacteriana. Pode-se inferir que os dois grupos do estudo foram semelhantes e puderam ser comparados entre si. A perda de peso não foi significativa, não devendo ter interferido na ação da Glutamina e na translocação bacteriana.

O suporte nutricional com o uso de farmaconutrientes vem sendo desenvolvido visando à preservação da barreira intestinal. Estudos clínicos têm sido realizados^{34,37,59} com o objetivo de comparar diferentes dietas, enriquecidas com diferentes substâncias e administradas por diferentes vias, para que se possa verificar possíveis benefícios na redução da translocação bacteriana, redução do número de complicações sépticas, melhora da imunidade, permeabilidade intestinal, mortalidade, tempo de permanência hospitalar e custos.

GRIFFTHS e colaboradores (1997)³⁴ realizaram estudo clínico com o objetivo de comprovar que a deficiência de Glutamina, em pacientes gravemente enfermos, gera prolongamento do internamento hospitalar e aumento da mortalidade. Estudaram 84 pacientes que recebiam nutrição parenteral em Unidades de Terapia Intensiva e concluíram que em pacientes incapazes de receber nutrição enteral, a suplementação de Glutamina na nutrição parenteral melhora a sobrevida e diminui o custo de internamento hospitalar. HOUDIJK e colaboradores (1998)³⁷ realizaram estudo clínico com o objetivo de investigar o efeito da suplementação de Glutamina na morbidade de pacientes politraumatizados. Estudaram 72 pacientes que receberam Glutamina por pelo menos 5 dias após o trauma e concluíram que houve uma diminuição da frequência de pneumonias e sepse nos pacientes que receberam Glutamina. POWELL-TUCK e colaboradores (1999)⁵⁹ realizaram estudo clínico com o objetivo de avaliar se a inclusão de Glutamina em solução de nutrição parenteral diminuiria o tempo de internamento hospitalar e mortalidade em pacientes criticamente enfermos. Realizaram estudo duplo-cego, randomizado, com 168 pacientes de Unidades de Terapia Intensiva que recebiam ou não suplementação de Glutamina. Concluíram que não houve diferença em relação à mortalidade e tempo de internamento hospitalar entre os dois grupos. No entanto, observou-se que há um efeito benéfico para

grupos específicos de pacientes, com uma diminuição do tempo de internamento dos pacientes cirúrgicos e da mortalidade de pacientes portadores de neoplasia.

Dessa maneira, o exato papel terapêutico da Glutamina, como farmaconutriente em humanos, ainda não está elucidado. Ainda não foi demonstrada relação direta de causa e efeito entre o uso de Glutamina e a diminuição da translocação bacteriana em humanos, sendo que poucos estudos prospectivos controlados, com grande número de pacientes, foram realizados para que se possa afirmar que a Glutamina diminua esses índices⁴⁵. Os resultados da utilização de Glutamina sobre a translocação bacteriana em estudos experimentais são extremamente controversos. Alguns estudos apresentam diminuição^{26,28,86} e outros não demonstram alterações da translocação bacteriana^{6,28,85}.

Sabe-se também que a análise isolada de hemocultura e das culturas de órgãos à distância, não reflete perfeitamente a translocação bacteriana. Na verdade, a subestima, já que as bactérias que cruzam a mucosa entérica podem ser eliminadas pelo componente imunológico da barreira intestinal e nem sempre atingirão os linfonodos mesentéricos, órgãos à distância e a circulação sangüínea. Assim, a translocação bacteriana não pode ser simplesmente reduzida a uma cultura positiva ou negativa, já que todos os fatores que compõem a barreira intestinal, a patogenicidade bacteriana e imunidade do hospedeiro não podem ser simplesmente reunidos sob uma única variável.

No presente estudo, os resultados das culturas de todos os órgãos demonstraram uma diferença estatisticamente significativa ($p=0,027$) entre o crescimento de *Escherichia coli* nas culturas do Grupo GLU em relação àquelas do Grupo GLI (Tabela 3). Todos os animais, de ambos os grupos, apresentaram translocação bacteriana para os linfonodos mesentéricos (Tabela 4). Dessa forma, houve translocação bacteriana em todos os animais de todos os grupos. As hemoculturas e as culturas dos baços, fígados e pulmões apresentaram menor positividade no Grupo GLU (Tabelas 5,6,7, e 8), entretanto essa

diferença não foi estatisticamente significativa ($p>0,05$).

O linfonodo mesentérico é o primeiro órgão a ser atingido pelas bactérias que ultrapassam a barreira intestinal^{2,7,19}, sendo este também, o local onde mais comumente se encontram culturas positivas nos trabalhos que investigam a presença de translocação bacteriana⁷⁰. Muitos deles, avaliam somente as culturas dos linfonodos mesentéricos^{17, 26,86,89}. A capacidade da Glutamina em diminuir a translocação bacteriana não deve ser avaliada somente com base nos resultados obtidos no presente estudo. Estes resultados podem ter sido causados pelo modelo experimental utilizado, que gerou agressão severa nos organismos dos animais, através do aumento da população bacteriana intraluminal, pela inoculação de *Escherichia coli* entérica (no primeiro estágio da translocação bacteriana) ou pelos complexos mecanismos que regulam a barreira intestinal, os mecanismos de defesa do hospedeiro e agressividade do patógeno. Por outro lado, a diminuição do número total de culturas positivas no Grupo GLU sugere papel protetor da Glutamina sobre a mucosa entérica (no segundo estágio da translocação bacteriana), diminuindo assim, não o índice de translocação bacteriana, mas o número de órgãos atingidos por elas e talvez a severidade da agressão e a cascata de eventos por ela gerada.

A Glutamina é o aminoácido mais abundante no organismo humano, equivalendo a cerca de 60% do total de aminoácidos existentes⁶⁹. Há duas enzimas responsáveis pela sua síntese e degradação, respectivamente Glutamina Sintetase e Glutaminase⁶⁸. Elas são distribuídas heterogeneamente entre os diversos tecidos orgânicos, havendo dessa forma, um fluxo inter-órgãos, com predomínio de produção ou degradação, conforme as necessidades orgânicas e as necessidades de cada órgão ou tecido^{68,69,77,84}.

A Glutamina possui várias funções, destacando-se entre elas, importante papel regulatório na síntese de nucleotídeos e de proteínas, regulação da produção de amônia renal, e regulação do pH sanguíneo. Além disso, funciona como combustível celular para

células, com grande capacidade de replicação como células endoteliais dos vasos sanguíneos, renais, entéricas, fibroblastos, linfócitos e células neoplásicas^{68,77,84}.

O intestino funciona como principal órgão consumidor de Glutamina, acreditando-se que ela exerça papel protetor sobre a mucosa entérica. O consumo intestinal desse aminoácido aumenta e a sua reserva diminui de 30 a 50% em situações de *stress* e de hipercatabolismo, sendo considerado um aminoácido essencial nessas condições, onde sua ingestão diminui e seu consumo aumenta^{68,69,77,84}.

Os mecanismos de ação pelos quais a Glutamina exerce seus efeitos homeostáticos e protetores da barreira intestinal ainda não estão completamente evidenciados. Pode exercer papel importante na prevenção e/ou diminuição da resposta inflamatória, já que o fluxo interorgânico existente entre os diversos órgãos que consomem ou produzem Glutamina é completamente alterado em pacientes sépticos. Isso poderia explicar a progressão da sepse para a insuficiência de múltiplos órgãos e sistemas e corroborar com a hipótese da origem intestinal da sepse⁶⁸.

A Glutamina diminui a atrofia das vilosidades entéricas em situações de desnutrição, hipercatabolismo, utilização de nutrição parenteral em pacientes cirúrgicos e portadores de neoplasia^{67,64,77,78}. Nesses casos, atua na manutenção da atividade proliferativa dos enterócitos^{67,64,77,78}, estimulando síntese de nucleotídeos pelos mesmos^{51,78} e regulando a morte celular através do controle de mecanismos da apoptose nos enterócitos⁵⁸. A dose necessária para a diminuição da atrofia jejunal é de 4g/kg/dia, correspondente a cerca de 80% da requisição protéica diária⁵¹. Acredita-se que Glutamina seja responsável pela manutenção do trofismo da mucosa entérica, o que poderia diminuir a translocação bacteriana^{44,77}.

Além de agir diretamente sobre o enterócitos^{76,77,78}, a Glutamina poderia agir sobre o componente imunológico da barreira intestinal, atuando sobre o funcionamento do

neutrófilo⁶⁴ e/ou do monócito-macrófago^{30,80}. A Glutamina preservaria também o número de linfócitos e estimularia sua diferenciação, expressividade de seus receptores e sua proliferação^{33,76,77}. Agiria também no controle da síntese de citocinas^{5,74,78,81}, especialmente da Interleucina-1, Interleucina-2, Interleucina-4, Interleucina-6, Interleucina-10, Fator de Necrose Tumoral, e Interferon-gama. Sabe-se ainda que Glutamina exerce papel fundamental na imunidade das mucosas, especialmente mantendo os níveis séricos da IgA secretória^{10,39,78}. Também pode atuar aumentando os níveis séricos de glutathione e, conseqüentemente, diminuindo a concentração de radicais livres de Oxigênio³⁶ ou de uma forma indireta regulando o metabolismo da arginina⁶².

A possível atuação da Glutamina na manutenção da atividade proliferativa dos enterócitos e sobre diversos componentes do sistema imunológico, associada à diminuição do número total de culturas positivas no Grupo GLU, corrobora os achados do presente estudo, sugerindo um possível papel protetor da Glutamina sobre a mucosa entérica (no segundo estágio da translocação bacteriana), diminuindo assim, não a translocação bacteriana, mas a severidade da agressão a qual a barreira intestinal está sendo submetida.

Nos achados macroscópicos no dia da eutanásia dos animais, não se observou diferença após 24 horas da realização da oclusão intestinal entre os animais de ambos os grupos. Tendo em vista isoladamente os achados macroscópicos, pode-se inferir que a ação da Glutamina não é evidente a ponto de alterar os aspectos macroscópicos da lesão estabelecida, já que os animais do Grupo GLU não tiveram uma maior preservação macroscópica do intestino lesado pela oclusão ou dos órgãos que foram coletados para estudo microbiológico. Posterior análise histológica, imunohistoquímica e de testes imunológicos de função linfocitária ou macrófagica poderão servir para complementação do presente estudo.

A utilização de Glutamina na tentativa de diminuir a translocação bacteriana, é

polêmica e controversa, cria divisões entre os especialistas da área e diariamente, ganha adeptos, incrédulos e combatadores. O presente estudo objetivou a avaliação da translocação bacteriana em ratos que tiveram enriquecimento de uma dieta regular com este aminoácido específico, o que supostamente diminuiria a translocação bacteriana e o número de culturas positivas e de órgãos atingidos pela bactéria em estudo. Não se verificou que a Glutamina cause uma diminuição nos índices de translocação bacteriana, visto que houve translocação bacteriana em todos os animais do estudo.

No entanto, a análise no número total de culturas positivas em ambos os grupos permite inferir que a Glutamina exerce um papel protetor em determinadas situações e doenças, de acordo com a severidade do trauma ao que o organismo é submetido, patogenicidade bacteriana e imunidade do hospedeiro.

WILMORE (2000)⁸³ acredita que o suporte nutricional no século XXI proporcionará que um dia, possamos saber como e quando utilizar cada nutriente especificamente. Saberemos também como esses nutrientes atuarão no metabolismo, como poderão modificar doenças e ajudar em vários aspectos da prática clínica diária. Até lá, muitos estudos precisarão ser realizados com cada nutriente específico e em particular, também com a Glutamina, para que possamos descobrir, confirmar e provar seus efeitos, indicações, limitações e reais benefícios.

VI - CONCLUSÕES

6 CONCLUSÕES

Baseadas nos objetivos deste estudo, a análise dos dados permite as seguintes conclusões:

- *Objetivo: Avaliar o efeito da Glutamina sobre a translocação bacteriana.*

A associação de oclusão do íleo terminal e injeção de *Escheria coli* ATCC 25992 gera altos índices de translocação bacteriana, sendo que no presente estudo, houve translocação bacteriana em todos os animais, sendo portanto, o índice de translocação bacteriana idêntico em ambos os grupos.

Dessa forma, o uso de Glutamina durante um período prévio à lesão, não está relacionado a uma diminuição do índice de translocação bacteriana.

- *Objetivo: Verificar se a Glutamina apresenta um efeito protetor da barreira intestinal. Se existente, se esta proteção é órgão-específica.*

O uso de Glutamina durante um período prévio à lesão diminuiu o número de culturas positivas dos órgãos à distância, demonstrando ter papel protetor, aparentemente profilático sobre a barreira intestinal, não havendo um órgão que seja especificamente protegido pelo uso desse aminoácido. Estudos posteriores servirão para determinar sobre qual dos componentes da barreira intestinal a Glutamina exerce seu efeito protetor.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 ABCOUWER, S.F. Effects of glutamine on immune cells. **Nutrition**, Syracuse, v.16, n.1, p. 67-69, Jan. 2000.
- 2 AKÇAY, M.N.; ÇAPAN, M.Y.; GÜNDOĞDU, C. et al. Bacterial translocation in experimental intestinal obstruction. **J. Int. Med. Res.**, West Sussex, v.24, n.1, p.17-26, Jan. / Feb. 1996.
- 3 ALEXANDER, J. W.; BOYCE, S. T.; BABCOCK, G. F. et al. The process of microbial translocation. **Ann. Surg.**, Philadelphia, v. 212, n. 4, p. 496-512, Oct. 1990.
- 4 ALVERDY, J. C. Effects of glutamine-supplemented diets on immunology of the gut. **J. Parenter. Enteral Nutr.**, Baltimore, v. 14, Supplement 4, p. 109S-113S, Jul./ Aug. 1990.
- 5 AOSASA, S.; MOCHIZUKI, H. & YAMAMOTO, T. A clinical study of the effectiveness of oral glutamine supplementation during total parenteral nutrition: influence on mesenteric mononuclear cells. **J. Parenter. Enteral Nutr.**, Baltimore, v. 23, n.5, p. 541-545, Sept. / Oct. 1999.
- 6 BARK, T; KATOULI, M.; LJUNGQUIST, O. et al. Glutamine supplementation does not prevent bacterial translocation after non-lethal haemorrhage in rats. **Eur. J. Surg.**, Oslo, v. 161, n.1, p. 3-8, Jan. 1995.
- 7 BERG, R. D. Bacterial translocation from the gastrointestinal tract. **Trends in Microb.**, Cambridge-UK, v.3, n.4, p149-154, Apr. 1995.
- 8 BONE, R.C. The sepsis syndrome. Definition and general approach to management. **Clin. Chest Med.**, Philadelphia, v.17, n.2, p.175-181, June 1996.
- 9 BUCHMAN, A.L. Glutamine: is it a conditionally required nutrient for the human gastrointestinal system? **J. Am. Coll. Nutr.**, New York, v.15, n.3, p.199-205, June 1996.

- 10 BURKE, D.J.; ALVERDY, M.D.; AOYS, E. et al. Glutamine-supplemented total parenteral nutrition improves gut immune function. **Arch. Surg.**, Chicago, v. 124, n.12, p. 1396-1399, Dec. 1989.
- 11 CAMERON, J. **Current Surgical Therapies**, 5th. ed.. St. Louis : Mosby, 1995.
- 12 CAMPOS, A. C. L. **Translocação bacteriana em ratos recebendo nutrição parenteral**. Curitiba, 1992. Tese (Doutor em Clínica Cirúrgica). Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.
- 13 CAO, Y.; FENG, Z.; HOOS, A. et al. Glutamine enhances gut glutathione production. **J. Parent. Enteral Nutr.**, Baltimore, v.22, n. 4, p. 224-227, Apr. 1998.
- 14 CIVITTA, J.M.; TAYLOR, R.W. & KERBY, R.R. **Critical Care**. 3. ed. Philadelphia : J.B. Lippincott Raven Publishers, 1997.
- 15 CUNNINGHAM-RUNDLES, S. & LIN, D.H. Nutrition and the immune system of the gut. **Nutrition**, Syracuse, v. 14, n.7, p. 573-579, July 1998.
- 16 DEITCH, E.A. Bacterial translocation: the influence of dietary variables. **Gut**, London, v. 35, Supplement 1, p. S23-27, June 1994.
- 17 _____. Simple intestinal obstruction causes bacterial translocation in man. **Arch. Surg.**, Chicago, v.124, n.6, p.699-701, June 1989.
- 18 DEITCH, E. A.; BERG, R. D.; SPECIAN, R. Endotoxin promotes the translocation of bacteria from the gut. **Arch. Surg.**, Chicago, v. 122, n. 2, p. 185-190, Feb. 1987.
- 19 DEITCH, E. A.; BRIDGES, W. M.; MA, J. W. et al. Obstructed intestine as a reservoir for systemic infection. **Am. J. Surg.**, Newton, v. 159, p. 394-401, Apr. 1990.
- 20 DEITCH, E. A.; XU, D; QI, L. et al. Bacterial translocation from the gut impairs systemic immunity. **Surgery**, St. Louis, v. 109, n.3, p. 269-276, Mar. 1991.
- 21 DEN HOND, E.; HIELE, M.; PEETERS, M. et al. Effect of long-term oral glutamine supplements on small intestinal permeability in patients with Crohn's disease. **J. Parent. Enteral Nutr.**, Baltimore, v.23, n.1, p.7-11, Jan. / Feb. 1999.

- 22 DICKSON, T.M.; WONG, R.M.; NEGRIN, R.S. et al. Effect of oral glutamine supplementation during bone marrow transplantation. **J. Parent. Enteral Nutr.**, Baltimore, v.24, n.2, p.61-66, Mar. / Apr. 2000.
- 23 DING, J.W.; ANDERSSON, R; SOLTES, L. et al. Obstructive jaundice impairs reticuloendothelial function and promotes bacterial translocation. **J. Surg. Res.**, San Diego, v. 57, n. 2, p. 238-245, Aug. 1994
- 24 EDMISTON Jr., C. E.; CONDON, R. E. Bacterial translocation. **Surg. Gynecol. Obstet.**, Chicago, v. 173, n.7, p. 73-83, July 1991.
- 25 ELEFThERIADIS, E.; KOTZAMPASSI, K.; PAPANOTAS, K. et al. Gut ischemia, oxidative stress, and bacterial translocation in elevated abdominal pressure in rats. **World J. Surg.**, New York, v. 20, n. 1, p. 11-16, Jan.- Feb. 1996.
- 26 ERSIN, S.; TUNCYUREK, P. E. & SASSOLAK, M. et al. The prophylactic and therapeutic effect of glutamine and arginine enriched diets in radiation-induced enteritis rats. **J. Surg. Res.**, San Diego, v.89, n.2, p.121-125, Apr.2000.
- 27 FISCHER, J.E. **Nutrition and metabolism in the surgical patient.** 2. ed. Boston : Little Brown and Company, 1997.
- 28 FOITZIK, R.L.; KRUSCHEWSKI, M.; KROESEN, A.J. et al. Does glutamine reduce bacterial translocation? **Int. J. Colorectal Dis.**, [ni], v.14, n. 1, p.143-149, Jan. 1999.
- 29 FUKUSHIMA, R.; GIANOTTI, L.; ALEXANDER, J.W. The primary site of bacterial translocation. **Arch.Surg.**, Chicago, v.129, n.1, p.53-58, Jan. 1994.
- 30 FURUKAWA, S.; SAITO, H.; INOUE, T. et al. Supplemental glutamine augments phagocytosis and reactive oxygen intermediate production by neutrophils and monocytes from postoperative patients in vitro. **Nutrition**, Syracuse, v.16, n.5, p.323-329, May 2000.
- 31 GENNARI, R. & ALEXANDER, J.W. Arginine, glutamine, and dehydroepiandrosterone reverse the immunosuppressive effect of prednisone during gut-derived sepsis. **Crit. Care Med.**, Washington, v. 25, n. 7, p. 1207-1214, July 1997.

- 32 GENNARI, R.; ALEXANDER, J. W. & EAVES-PYLES, T. Effect of different combinations of dietary additives on bacterial translocation and survival in gut derived sepsis. **J. Parent. Enteral Nutr.**, Baltimore, v.19, n.4, 319-325, Jul. / Aug. 1995.
- 33 GISMONDO, M. R.; DRAGO, L. & FASSINA, M. C. Immunostimulating effect of oral glutamine. **Dig. Dis. Sci.**, Pittsburgh, v. 43, n.8, p. 1752-1754, Aug. 1998.
- 34 GRIFFITHS, R. D.; JONES, C. & PALMER, T. E. A. Six-month outcome of critically ill patients given glutamine-supplemented parenteral nutrition. **Nutrition**, Syracuse, v.13, n.4, p.295-302, Apr. 1997.
- 35 HALL, J. B.; SCHMIDT, G. A. & WOOD, L. D. H. **Principles of Critical Care**. New York : McGraw Hill Inc, 1992.
- 36 HARWARD, T. R. S.; COE, D.; SOUBA, W. W. et al. Glutamine preserves gut glutathione levels during intestinal ischemia/reperfusion. **J. Surg. Res.**, San Diego, v. 56, n. 4, p. 351-355, Apr. 1994.
- 37 HOUDIJK, A. P. J.; RIDJSBURGER, E. R.; JANSEN, J. et al. Randomised trial of glutamine-enriched enteral nutrition on infectious morbidity in patients with multiple trauma. **Lancet**, New York, v. 352, n. 9130, p.772-776, Sept.1998.
- 38 KIM P. K. & DEUTSCHMAN, C. S. Inflammatory responses and mediators. **Surg. Clin. North. Am.**, Philadelphia, v. 80, n. 3, p. 885-894, Jun. 2000.
- 39 KUDSK, K. A; WU; Y.; FUKATSU, K. et al. Glutamine-enriched total parenteral nutrition maintains Interleukin-4 and mucosal Immunoglobulin-A levels. **J. Parent. Enteral Nutr.**, Baltimore, v.24, n.5, 270-275, Sept. / Oct. 2000.
- 40 LEMAIRE, L. C. J. M.; VAN LANSCHOT, J. J. B.; STOUTENBEEK, C. P. et al. Bacterial translocation in multiple organ failure: cause or epiphenomenon still unproven. **Brit. J. Surg.**, London, v. 84, n. 10, p. 1340-1350, Oct. 1997.
- 41 LIN, E.; KOTANI, J. G. & LOWRY, F. Nutritional modulation of immunity and the inflammatory response. **Nutrition**, Syracuse, v. 14, n.6, p.545-550, June 1998.
- 42 LIPMAN, T. O. Bacterial translocation and enteral nutrition in humans: an outsider looks in. **J. Parent. Enteral Nutr.**, Baltimore, v. 19, n.2, p. 156-165, Mar-Apr. 1995.

- 43 MACFIE, J. Bacterial translocation in surgical patients. **Ann. R. Coll. Surg. Engl.**, London, v. 79, n.3, p183-189, May 1997.
- 44 _____. Enteral versus parenteral nutrition: the significance of bacterial translocation and gut-barrier function. **Nutrition**, Syracuse, v. 16, n.7-8, p.606-611, July / Aug. 1998.
- 45 MACFIE, J.; O'BOYLE, C.; MITCHELL, C. J. et al. Gut origin of sepsis: a prospective study investigating associations between bacterial translocation, gastric microflora, and septic morbidity. **Gut**, London, v.45, n. 2, p.223-228, Aug. 1999.
- 46 MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMPS, S. **Krause's food nutrition and diet therapy**. 10. ed. W.B. Philadelphia : Saunders, 2000.
- 47 MANDIR, N. & GOODLAD, R. A. The effects of glutamine on intestinal epithelial cell proliferation in parenterally fed rats. **Gut**, London, v..44, n. 5, p.608-614, May 1999.
- 48 MARSHALL, J. C.; CHRISTOU, N. V. & MEAKINS, J. L. The gastrointestinal tract: the "undrained abscess" of multiple organ failure. **Ann. Surg.**, Philadelphia, v.218, n. 2, p. 111-119, Aug. 1993.
- 49 MARTINS, E. L. **Efeito do tempo da isquemia sobre a translocação bacteriana em ratos com isquemia segmentar de cólon descendente**. Curitiba : Tese (Mestre em Clínica Cirúrgica) - Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, 1977.
- 50 MATARESE, L. E. & GOTTSCHLICH, M. M. **Contemporary nutrition support practice. A clinical guide**. Philadelphia : W.B. Saunders, 1998.
- 51 McCAULEY, R. KONGS. & HALL, J. Glutamine and nucleotide metabolism within enterocytes. **J. Parent. Enteral Nutr.**, Baltimore, v. 22, n.2, p.105-111, Mar. / Apr. 1998.
- 52 McKILLARD, D.P.; REILING, R.B. & EIEMAN, B. **Prognosis and outcome in surgical diseases**. St. Louis : Quality Med Publishers Inc., 1999.
- 53 MURRAY, M. J.; COMSIN, D. B.; PEARL, R. G.; PROUGH, D. S. & HEARD, S. O. **Critical care medicine. Perioperative management**. Philadelphia : Lippincott Raven Publishers, 1997.

- 54 MURRAY, P. K.; BARON, E. J.; PFALLER, M. A.; TENOVER, F. C. & YORKEN, R. H. **Manual of clinical microbiology**. 7th. ed. Washington : Ason Press, 1999.
- 55 NIEUWENHUIJZEN, G. A. P.; DEITCH, E. A. & GORIS, J. A. Infection, the gut and the development of the multiple organ dysfunction syndrome. **Eur. J. Surg.**, Oslo, v.162, n. 4, p.. 259-273, Apr. 1996.
- 56 O'BOYLE, C. J. Microbiology of bacterial translocation in humans. **Gut**, London, v. 42, n.1, p.29-35, Jan. 1998.
- 57 O'BOYLE, C. J; MACFIE, J.; DAVE, K. et al. Alterations in intestinal barrier function do not predispose to translocation of enteric bacteria in gastroenterologic patients. **Nutrition**, Syracuse, v. 14, n.4, p.358-362, Apr. 1998.
- 58 PAPACONSTANTINOU, H. T.; HWANG, K. O.; RAJARAMAN, S. et al. Glutamine deprivation induces apoptosis in intestinal epithelial cells. **Surgery**, St Louis, v.124, n.2, p.152-160, Feb. 1998.
- 59 POWELL-TUCK, J.; JAMIESON, C. P. & BETTANY, G. E. A. A double-blind-randomized controlled trial of glutamine supplementation in parenteral nutrition. **Gut**, London, v. 45, n.1, p. 82-88, July 1999.
- 60 REYNOLDS, J. V. Gut barrier function in the surgical patient. **Br. J. Surg.**, London, v. 83, n. 12, p. 1668-1669, Dec. 1996.
- 61 ROCHA, S. L. **Recuperação em órgãos e tecidos de *Escherichia coli* ATCC 25922, inoculada no íleo terminal de ratos com obstrução biliar prolongada**. Curitiba : Tese (Doutor em Clínica Cirúrgica) - Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, 2000.
- 62 ROTHSTEIN, R .D.; ROMBEAU, J. L. Nutrient pharmacotherapy for gut mucosal diseases. **Gastroenterol. Clin. North Am.**, Philadelphia, v.72, n.2, p.387-401, Febr. 1998.
- 63 SAGAR, P. M.; MACFIE, J.; SEDMAN, P.; MAY, J.; MANCEY-JONES B. & JOHNSTONE, D. Intestinal obstruction promotes gut translocation of bacteria. **Dis. Col. Rectum** , Hagestown, v.38, n.6, p.640-643, Jun.1995.
- 64 SAITO, H.; FURUKAWA, S. & MATSUDA. S. Glutamine as an immunoenhancing nutrient. **Surg. Clin. North Am.**, Philadelphia, v.23, n.5, Supplement, p.S59-S61, Sep. / Oct. 1999.

- 65 SCOTT-CONNER, C.E; GROGAN, J. B. The pathophysiology of biliary obstruction and its effect of phagocytic and immunologic function. **J. Surg. Res.**, San Diego, v.57, n.2, p.313-336, Aug. 1994.
- 66 SEDMAN, P. C.; MACFIE, J.; SAGAR, P. et al. The prevalence of gut translocation in humans. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 107, n. 3, p. 643-649, Sep. 1994.
- 67 SCHEPPACH, W.; LOGES, C.; BARTRAM, P. et al. The effect of free glutamine and alanyl glutamine dipeptide on proliferation of the human ileum and colon. **Gastroenterology**, Philadelphia, v.107, n.2, p.429-434, Aug. 1994.
- 68 SOUBA, W. W. HERSKOWITZ, K. AUSTGEN, T. R. et al. Glutamine nutrition: theoretical considerations and therapeutic impact. **J. Parent. Enteral Nutr.**, Baltimore, v. 14, n.5, Supplement, p. S237-S243, Sept. / Oct. 1990.
- 69 SOUBA, W. W.; HERSKOWITZ, K.; KLIMBERG, V. S. et al. The effect of sepsis and endotoxemia on gut glutamine metabolism. **Ann. Surg.**, Philadelphia, v. 211, n. 5, p. 543-551, May 1990.
- 70 SPAETH, G.; GOTTWALD, T. & HAS, W. Glutamine peptide does not improve gut barrier function and mucosal immunity in total parenteral nutrition. **J. Parent. Enteral Nutr.**, Baltimore, v. 17, n.4, p.317-323, July / Aug.1993.
- 71 SUN, Y.; HARDAWAY, R. M.; WILLIAMS, C. H. et al. Comparison of bacterial translocation during traumatic shock and hemorrhagic shock in rats. **Int. Surg.**, Chicago, v.82, n.2, p.134-136, Apr. / June 1997.
- 72 SWANK, G.M.; DEITCH, E. A. Role of the gut in multiple organ failure: bacterial translocation and permeability changes. **World. J. Surg.**, New York, v.20, n.4, p.411-417, May 1996.
- 73 TADROS, T. TRABER, D. L HEMDON, D. N. Trauma and sepsis induced hepatic ischemia and reperfusion injury. **Arch. Surg.**, Chicago, v.135, n.7, p.766-772, July 2000.
- 74 TAKAHASHI, I. & KIYONO, H. Gut as the largest immunologic tissue. **J. Parent. Enteral Nutr.**, Baltimore, v. 23, n.5, Supplement, p. S7-S12, Sept. / Oct. 1999.
- 75 TORRES, O. J. M. **Translocação bacteriana: efeito de dieta imunoestimuladora em ratos submetidos a oclusão intestinal.** Curitiba : Tese (Doutor em Clínica Cirúrgica) - Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, 1997.

- 76 TRAYA, G. **Efeito do tempo de obstrução biliar extra-hepática sobre a translocação bacteriana, endotoxemia e fator de necrose tumoral alfa: estudo experimental em ratos.** Curitiba : Tese (Mestre em Clínica Cirúrgica) - Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, 1999.
- 77 Van ACKER, B. A. C.; Von MEYENFELDT, M. F.; Van der HULST, R. R. W. J. et al. Glutamine: the pivot of our nitrogen economy? **J. Parent. Enteral Nutr.**, Baltimore, v. 23, n.5, Supplement, p. S45-S48, Sept. /Oct. 1999.
- 78 Van der HULST, R. R. W. J.; Von MEYENFELDT, M. F.; TIEBOSCH, A. et al. Glutamine and intestine immune cells in humans. **J. Parent. Enteral Nutr.**, Baltimore, v. 21, n.6, p. 310-315, Nov. / Dec. 1997.
- 79 WELLS, C. L.; MADDAUS, M. A. & SIMMONS, R. L. Proposed mechanisms for the translocation of intestinal bacteria. **Rev. Infect. Dis.**, Chicago, v. 10, n. 5, p.958-979, Sept. / Oct. 1988.
- 80 WELLS, C. L.; MADDAUS, M. A. & SIMMONS, R. L. Role of the macrophage in the translocation of intestinal bacteria. **Arch. Surg.**, Chicago, v. 122, n.1, p. 48-53, Jan. 1987.
- 81 WELLS, S.M.; KEW, S.; YAQOUB, P. et al. Dietary glutamine enhances cytokine production by murine macrophages. **Nutrition**, Syracuse, v. 15, n.11/12, p. 881-884, Nov. / Dec. 1999.
- 82 WIEST, R.; D. A. S, S.; CADELINA, G. et al. Bacterial translocation in cirrhotic rats stimulates eNOS-derived NO production and impairs mesenteric vascular contractility. **J. Clin. Invest.**, Ann Arbor, v. 104, n. 9, p.1223-1233, Nov. 1999.
- 83 WILMORE, D.W. Nutrition and metabolic support in the 21st Century. **J. Parent. Enteral Nutr.**, Baltimore, v. 24, n. 1, p. 1-4, Jan. 2000.
- 84 WILMORE, D.W. & SHABERT, J.K. Role of glutamine in immunologic responses. **Nutrition**, Syracuse, v. 14, n. 7-8, p.618-626, July 1998.
- 85 XU, D; QI, L.; THIRSTRUP, C. et al. Elemental diet-induced bacterial translocation and immunosuppression is not reversed by glutamine. **J. Trauma**, Baltimore, v. 3, n. 6, p. 821-824, Dec.1993.

- 86 ZAPATA-SIRVENT, R. L.; HANSBROUGH, J. F.; OHARA, M.M. et al. Bacterial translocation in burned mice after administration of various diets including fiber and glutamine enriched-enteral formulas. **Crit. Care Med.**, Washington, v. 22, n. 4, p.690-696, Apr. 1994.
- 87 ZENI NETO, C. **Translocação bacteriana em ratos com oclusão intestinal: efeito do nível da oclusão e da isquemia.** Curitiba : Tese (Doutor em Clínica Cirúrgica) - Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, 1994.
- 88 ZENI NETO, C.; CAMPOS, A.C.L; COELHO, J.C.U. et al. Translocação bacteriana em ratos com oclusão intestinal. Efeito do nível da oclusão e da isquemia. **Rev. Col. Bras. Cir.**, Rio de Janeiro, n. 24, v. 2, p. 111-116, abr. / junho 1997.
- 89 ZIEGLER, T.R.; DAIGNAULT, N.M. Glutamine regulation of human immune cell function. **Nutrition**, Syracuse, v. 16, n. 6, p.458-459, June 2000.
- 90 ZHANG, W.; FRANKE, W.L; SINGH, A. et al. Improvement of structure and function in orthotopic small bowell transplantation in the rat by glutamine. **Transplantation**, Hagestown, vol. 56, n. 3, p. 512-517, Sept. 1993.

ANEXO

Tabela A1 - Peso dos ratos do Grupo GLU, em gramas, durante os dias do experimento.

	Dia1	Dia2	Dia3	Dia4	Dia5	Dia6	Dia7	Dia8 *	Dia9 **
R1	270	266	265	263	259	260	260	261	245
R2	251	237	241	238	240	215	235	237	222
R3	281	278	268	266	267	260	263	266	249
R4	281	283	271	267	268	268	263	259	248
R5	290	264	261	259	262	265	260	255	247
R6	175	191	178	189	194	193	193	197	182
R7	226	215	227	224	228	227	226	229	215
R8	227	216	223	230	232	231	236	230	225
R9	250	256	247	252	256	256	256	260	239
R10	177	188	185	177	176	170	164	158	148
R11	149	162	162	159	158	159	169	165	153

*Realização da oclusão intestinal

**Realização da eutanásia

R - Rato

Tabela A2 - Peso dos ratos do Grupo GLI, em gramas, durante os dias do experimento.

	Dia1	Dia2	Dia3	Dia4	Dia5	Dia6	Dia7	Dia8 *	Dia9 **
R1	165	157	159	159	158	158	162	162	147
R2	161	153	159	161	163	165	168	172	157
R3	146	134	136	141	144	144	148	150	137
R4	220	214	213	209	212	215	217	218	201
R5	214	208	209	213	208	210	210	216	201
R6	147	149	154	152	153	159	157	164	155
R7	165	165	164	168	169	175	173	178	162
R8	178	170	162	164	167	167	168	171	162
R9	154	149	154	161	162	165	163	168	154
R10	265	266	257	250	247	251	250	250	251
R11	287	286	276	282	279	279	284	276	265
R12	273	288	269	274	271	272	267	275	248

* Realização da oclusão intestinal

**Realização da eutanásia

R - Rato

Tabela A3 - Número de culturas positivas dos ratos do Grupo GLU.

Culturas positivas	
R1	1
R2	5
R3	5
R4	3
R5	4
R6	1
R7	4
R8	2
R9	2
R10	5
R11	4
Total	36

R - Rato

Tabela A4 - Número de culturas positivas dos ratos do Grupo GLI.

Rato	Culturas positivas
R1	5
R2	4
R3	5
R4	5
R5	5
R6	3
R7	4
R8	5
R9	5
R10	1
R11	5
R12	5
Total	52

R - Rato

Tabela A5 - Número de culturas positivas por órgão dos ratos do Grupo GLU.

	H	L	B	F	P
R1	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)
R2	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
R3	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
R4	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)
R5	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)
R6	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)
R7	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)
R8	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)
R9	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)
R10	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
R11	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)
Total	6(+)/5(-)	11(+)/0(-)	7(+)/4(-)	7(+)/4(-)	5(+)/6(-)

H - Hemoculturas

L - Culturas dos linfonodos

B - Culturas dos baços

F - Culturas dos fígados

P - Culturas dos pulmões

R - Rato

(+) = Cultura positiva

(-) = Cultura negativa

Tabela A6 - Número de culturas positivas por órgão dos ratos do Grupo GLI.

	H	L	B	F	P
R1	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
R2	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)
R3	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
R4	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
R5	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
R6	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)
R7	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)
R8	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
R9	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
R10	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)
R11	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
R12	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Total	11(+)/1(-)	12(+)/0(-)	10(+)/2(-)	11(+)/1(-)	8(+)/4(-)

H - Hemoculturas

L - Culturas dos linfonodos

B - Culturas dos baços

F - Culturas dos fígados

P - Culturas dos pulmões

R - Rato

(+) = Cultura positiva

(-) = Cultura negativa