

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE CIRURGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM CIRURGIA**

MARCOS ANTONIO ALVES

**EFEITOS DA L – ALANIL GLUTAMINA SOBRE AS CONCENTRAÇÕES *IN VIVO*
DE METABÓLITOS EM RATOS SUBMETIDOS À ISQUEMIA/REPERFUSÃO DO
MEMBRO PÉLVICO ESQUERDO**

**FORTALEZA
2005**

MARCOS ANTONIO ALVES

**EFEITOS DA L – ALANIL GLUTAMINA SOBRE AS CONCENTRAÇÕES *IN VIVO*
DE METABÓLITOS EM RATOS SUBMETIDOS À ISQUEMIA/REPERFUSÃO DO
MEMBRO PÉLVICO ESQUERDO**

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Cirurgia, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do Grau de Mestre em Cirurgia.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos

**FORTALEZA
2005**

FICHA CATALOGRÁFICA

A48e Alves, Marcos Antonio

Efeitos da L-Alanil-glutamina sobre as concentrações *in vivo* de metabólitos em ratos submetidos à isquemia do membro pélvico esquerdo seguido de reperfusão / Marcos Antonio Alves. - Fortaleza, 2005.

146 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará. Departamento de Cirurgia.

1. Músculo Esquelético – metabolismo. 2. Isquemia 3. Traumatismo por reperfusão 4. Extremidades I.

Vasconcelos, Paulo Roberto Leitão (Orient) II. Título

CDD: 616.131

**EFEITOS DA L – ALANIL GLUTAMINA SOBRE AS CONCENTRAÇÕES *IN VIVO*
DE METABÓLITOS EM RATOS SUBMETIDOS À ISQUEMIA/REPERFUSÃO DO
MEMBRO PÉLVICO ESQUERDO**

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Cirurgia, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do Grau de Mestre em Cirurgia.

Aprovada em ____/____/ 2005

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Edna Frasson de Souza Montero
Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP

Prof^a. Dr^a. Nylane Maria Nunes de Alencar
Universidade Federal do Ceará - UFC

Prof. Dr. Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos (Orientador)
Universidade Federal do Ceará - UFC

À minha esposa e companheira Ruth, pelo estímulo constante em minha vida e, especialmente, pela força transmitida nesta tarefa árdua do mestrado.

**Aos meus pais Olavo, *in memoriam*, e
Elice, exemplos de vida dedicada à família.**

**Aos meus filhos Henrique, Carolina e
Marcos a compreensão neste trabalho.**

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos, orientador deste trabalho, pelos ensinamentos, competência, gentileza e paciência que sempre manteve durante a realização desta pesquisa que certamente marcou a minha formação científica.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal do Ceará, pelo empenho em transmitir seus conhecimentos nas disciplinas exigidas como pré-requisitos do mestrado que possibilitaram ampliar nosso aprendizado.

À Professora Doutora Edna Frasson de Souza Montero da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), Departamento de Cirurgia, Técnica Operatória e Cirurgia Experimental e à Professora Doutora Nylane Maria Nunes de Alencar do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da UFC pela delicadeza, amizade, elegância e notório saber com que generosamente me presentearam ao aceitarem participar da banca examinadora da defesa desta dissertação.

Ao Professor Sérgio Botelho Guimarães, professor Adjunto do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal do Ceará, por sua especial cooperação na orientação constante e disponibilidade em ajudar na elaboração dos gráficos e tabelas, além da revisão final deste trabalho.

Aos estudantes de medicina, Daniel Aguiar Dias, Paulo Roberto Cavalcante de Vasconcelos e Vicente de Paulo Martins Coelho Junior, que participaram aplicadamente, com responsabilidade, técnica, espírito científico e dedicação.

Aos colegas de mestrado, pelo companheirismo, espírito de luta e estímulo que cada um transmitia.

Aos examinadores da banca do exame de pré-qualificação, Professores Dr. João Martins de Sousa Torres, Dr. Lusmar Veras Rodrigues e Dr. Rodrigo Dornfeld Escalante, pelas importantes contribuições na análise crítica desta dissertação, além de contribuírem com brilhantes sugestões e críticas na melhoria deste trabalho

À senhora Maria Luciene Vieira de Oliveira, secretária do Programa de Pós-Graduação *stricto sensu* em Cirurgia, pela competência, gentileza e inquestionável dedicação ao seu trabalho.

Ao senhor Bento Francisco de Oliveira, assistente técnico do Biotério do Laboratório de Cirurgia Experimental da Faculdade de Medicina, sempre disponível no atendimento às nossas solicitações.

Ao senhor Francisco Evanir Gonçalves de Lima, funcionário da Unidade de Farmacologia Clínica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, pela ajuda técnica na preparação e execução dos ensaios metabólicos.

Enfim, a todos que, a seu modo, contribuíram para a execução deste trabalho, os meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

EFEITOS DA L - ALANIL GLUTAMINA SOBRE AS CONCENTRAÇÕES *IN VIVO* DE METABÓLITOS EM RATOS SUBMETIDOS À ISQUEMIA DO MEMBRO PÉLVICO ESQUERDO SEGUIDA DE REPERFUSÃO. MARCOS ANTONIO ALVES. Dissertação (Mestrado em Cirurgia). Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Cirurgia. Universidade Federal do Ceará. Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos.

Foram investigados os efeitos metabólicos da L-alanil-glutamina nas concentrações sanguíneas e teciduais dos metabólitos (piruvato, lactato, glicose, acetoacetato, 3-hidroxiacetato, corpos cetônicos e ATP) em ratos Wistar submetidos à isquemia/reperfusão do membro pélvico. Utilizaram-se 96 ratos adultos, machos, distribuídos aleatoriamente em 4 grupos numericamente iguais e pré-tratados com solução salina 2,0 mL (G-1 e G-3) ou L-alanil-glutamina 0,75 g Kg⁻¹(G-2 e G-4), durante 7 dias. Uma hora após a última gavagem, todos os ratos foram submetidos ao pinçamento da artéria ilíaca esquerda ou operação simulada. Após 3 horas a pinça foi removida; nos grupos simulados realizou-se nova intervenção cirúrgica. Amostras (músculo, fígado, rim e sangue) foram coletadas ao final da isquemia máxima (T-0) e durante a reperfusão (1, 3 e 6h). Os metabólitos foram determinados por ensaio enzimático e expressos como Média ± E.P.M. Testes não paramétricos (Mann-Whitney e Kruskal-Wallis/Dunn) foram utilizados para a análise estatística. O nível de significância foi de p<0,05. Não foi evidenciada elevação nas concentrações de lactato, piruvato e glicose durante a lesão de isquemia ou reperfusão, comparando-se os grupos tratados com solução salina (G-1 vs. G-2). Por outro lado houve redução nas concentrações de corpos cetônicos em tecido muscular no tempo de isquemia máxima e hiperglicemia durante o período de reperfusão. Houve elevação nas concentrações hepáticas de lactato e glicose muscular e redução de lactato no mesmo tecido, nos ratos pré-tratados com o dipeptídeo. Observou-se ainda, nos mesmos animais, elevação das concentrações de corpos cetônicos no fígado, no sangue, no músculo e nas concentrações renais de lactato. Conclui-se, portanto, que o modelo de pinçamento da artéria ilíaca esquerda promove alterações metabólicas decorrentes da lesão de isquemia/reperfusão. O dipeptídeo L-ALA-GLN induz aumento nas concentrações hepáticas de lactato, promove elevação de glicose muscular e redução de lactato no mesmo tecido indicando aumento no “turn over” de glicose. O dipeptídeo causou aumento da cetogênese, cetonemia e captação de corpos cetônicos durante a reperfusão, assim como hiperlactacemia e aumento nas concentrações renais de lactato. Maior atividade glicolítica em tecidos periféricos, via ativação do ciclo malato-aspartato, levou a diminuição da resistência insulínica com possível queda de insulinemia, com aumento da cetogênese.

DESCRITORES: Músculo [metabolismo]. Isquemia. Lesão de reperfusão. Metabólitos. L-alanil-glutamina.

ABSTRACT

EFFECTS OF L-ALANYL-GLUTAMINE UPON *IN VIVO* METABOLITES CONCENTRATIONS IN RATS SUBJECTED TO HIND LIMB ISCHEMIA FOLLOWED BY REPERFUSION. MARCOS ANTONIO ALVES. Dissertation ((Master's Degree in Surgery). Post-Graduation Program in Surgery (*Stricto Sensu*) in Surgery. Federal University of Ceará. Professor: Dr. Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos.

A study has been conducted to investigate the effects of L-alanyl-glutamine upon blood and tissue concentrations of metabolites (pyruvate, lactate, glucose, acetoacetato, 3-hydroxybutyrate, ketone bodies and ATP) in Wistar rats subjected to ischemia/reperfusion of hind limb. Ninety-six adult male rats were randomized in 4 groups and pre-treated with saline 2.0 mL (G-1,G-3) or L-alanyl-glutamine solution 0.75 mgKg⁻¹(G-2, G-4) during 7 days. One-hour after the last gavage all rats were submitted to clamping of the left iliac artery or sham operation. The clamp was removed after 3 h; sham rats were operated once more. Muscle, liver, kidney and blood samples were collected at the end of ischemia and at 1-3-6 h during reperfusion. Metabolites were submitted to enzymatic analyses. Results were expressed as Mean ± S.E.M. Non-parametric tests (Mann-Whitney and Kruskal-Wallis/Dunn) were utilized for statistical analyses. P<0.05 was accepted as significant. Lactate, pyruvate and glucose concentrations did not increase during ischemia or reperfusion in rats pre-treated with saline (G-1 vs. G-2). On the other hand ketone bodies concentrations were decreased in T-0 and blood glucose was elevated during reperfusion. Liver lactate and muscle glucose were increased and lactate concentration was decreased in L-alanyl-glutamine pre-treated rats. Ketone bodies were elevated in the liver, muscle and blood and renal lactate was also elevated in the aforementioned rats. It is concluded that the model utilized in this study promotes significant metabolic alterations due to ischemia/reperfusion injury. L-Ala-Gln dipeptide induced increased hepatic lactate and muscle glucose concentrations and decreased of muscle lactate concentrations point out to increased turnover of glucose. L-Ala-Gln also induced increased ketogenesis, ketonemia and ketone bodies uptake during reperfusion along with increased lactacidemia and kidney lactate concentrations. Increased glycolytic activity in peripheral tissues via malate-aspartate shuttle activation lead to decreased insulin resistance with possible decrease in plasma insulin levels and increased ketogenesis.

KEY WORDS: Muscle [metabolism]. Ischemia. Reperfusion injury. Metabolites. L-alanyl-glutamine

Lista de Figuras

FIGURA 01 - Fórmula estrutural da glutamina (adaptada de Roskoski, 1997).....	07
FIGURA 02 - Principais interações da glutamina no organismo.....	08
FIGURA 03 - Representação estrutural da L-alanil-glutamina.....	11
FIGURA 04 - Delineamento do experimento.....	14
FIGURA 05 - Técnica de gavagem.....	15
FIGURA 06 - Animal imobilizado e sob efeito anestésico.....	16
FIGURA 07 - Identificação da aorta e artérias ilíacas.....	18
FIGURA 08 - Artéria ilíaca comum esquerda pinçada.....	18
FIGURA 09 - Punção aórtica.....	19
FIGURA 10 - Concentração de piruvato ($\mu\text{mol} / \text{ml}$) no sangue, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i>) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS).....	29
FIGURA 11 - Concentração de lactato ($\mu\text{mol} / \text{ml}$) no sangue, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i>) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS).....	30
FIGURA 12 - Concentração de glicose ($\mu\text{mol} / \text{ml}$) no sangue, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i>) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS).....	31
FIGURA 13 - Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol} / \text{ml}$) no sangue, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-2 (Isquemia Salina), tratados com solução salina (SS).....	32
FIGURA 14 - Concentração de piruvato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i>) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS).....	33
FIGURA 15 - Concentração de lactato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i>) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS).....	34
FIGURA 16 - Concentração de glicose ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i>) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS).....	35

FIGURA 17 - Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i>) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS).....	36
FIGURA 18 - Concentração de ATP ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i>) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS).....	37
FIGURA 19 - Concentração de piruvato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i>) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS).....	38
FIGURA 20 - Concentração de lactato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i>) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS).....	39
FIGURA 21 - Concentração de glicose ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i>) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS).....	40
FIGURA 22 - Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i>) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS).....	41
FIGURA 23 - Concentração de ATP ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i>) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS).....	42
FIGURA 24 - Concentração de piruvato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i>) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS).....	43
FIGURA 25 - Concentração de lactato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i>) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS).....	44
FIGURA 26 - Concentração de glicose ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i>) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS).....	45
FIGURA 27 - Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i>) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS).....	46

FIGURA 28 - Concentração de ATP ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i>) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS).....	47
FIGURA 29 - Concentração de piruvato ($\mu\text{mol} / \text{ml}$ sangue), comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN).....	48
FIGURA 30 - Concentração de lactato ($\mu\text{mol} / \text{ml}$ sangue), comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN).....	49
FIGURA 31 - Concentração de glicose ($\mu\text{mol} / \text{ml}$ sangue), comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN).....	50
FIGURA 32 - Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol} / \text{ml}$ sangue), comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN).....	51
FIGURA 33 - Concentração de piruvato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN).....	52
FIGURA 34 - Concentração de lactato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN).....	53
FIGURA 35 - Concentração de glicose ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN).....	54
FIGURA 36 - Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN).....	55
FIGURA 37 - Concentração de ATP ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN).....	56
FIGURA 38 - Concentração de piruvato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN).....	57
FIGURA 39 - Concentração de lactato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN).....	58
FIGURA 40 - Concentração de glicose ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN).....	59

FIGURA 41 - Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN).....	60
FIGURA 42 - Concentração de ATP ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN).....	61
FIGURA 43 - Concentração de piruvato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN).....	62
FIGURA 44 - Concentração de lactato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN).....	63
FIGURA 45 - Concentração de glicose ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN).....	64
FIGURA 46 - Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN).....	65
FIGURA 47 - Concentração de ATP ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN).....	66
FIGURA 48 - Concentração de piruvato ($\mu\text{mol} / \text{ml}$ sangue), comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN).....	67
FIGURA 49 - Concentração de lactato ($\mu\text{mol} / \text{ml}$ sangue), comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN).....	68
FIGURA 50 - Concentração de glicose ($\mu\text{mol} / \text{ml}$ sangue), comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN).....	69
FIGURA 51 - Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol} / \text{ml}$ sangue), comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN).....	70
FIGURA 52 - Concentração de piruvato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN).....	71

FIGURA 53 - Concentração de lactato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN).....	72
FIGURA 54 - Concentração de glicose ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN).....	73
FIGURA 55 - Concentração de ATP ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN).....	74
FIGURA 56 - Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN).....	75
FIGURA 57 - Concentração de piruvato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN).....	76
FIGURA 58 - Concentração de lactato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN).....	77
FIGURA 59 - Concentração de glicose ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN).....	78
FIGURA 60 - Concentração de ATP ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN).....	79
FIGURA 61 - Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN).....	80
FIGURA 62 - Concentração de piruvato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN).....	81
FIGURA 63 - Concentração de lactato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN).....	82

FIGURA 64 - Concentração de glicose ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN).....	83
FIGURA 65 - Concentração de ATP ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN).....	84
FIGURA 66 - Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN).....	85

Lista de Tabelas

TABELA 01 - Concentração de piruvato ($\mu\text{mol} / \text{ml}$) no sangue, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i>) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS).....	29
TABELA 02 - Concentração de lactato ($\mu\text{mol} / \text{ml}$) no sangue, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i>) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS).....	30
TABELA 03 - Concentração de glicose ($\mu\text{mol} / \text{ml}$) no sangue, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i>) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS).....	31
TABELA 04 - Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol} / \text{ml}$) no sangue, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i>) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS).....	32
TABELA 05 - Concentração de piruvato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i>) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS).....	33
TABELA 06 - Concentração de lactato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i>) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS).....	34
TABELA 07 - Concentração de glicose ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i>) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS).....	35
TABELA 08 - Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i>) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS).....	36
TABELA 09 - Concentração de ATP ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i>) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS).....	37
TABELA 10 - Concentração de piruvato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i>) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS).....	38

TABELA 11- Concentração de lactato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i>) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS).....	39
TABELA 12 - Concentração de glicose ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i>) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS).....	40
TABELA 13 - Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i>) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS).....	41
TABELA 14 - Concentração de ATP ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i>) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS).....	42
TABELA 15 - Concentração de piruvato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i>) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS).....	43
TABELA 16 - Concentração de lactato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i>) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS).....	44
TABELA 17 - Concentração de glicose ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i>) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS).....	45
TABELA 18 - Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i>) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS).....	46
TABELA 19 - Concentração de ATP ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i>) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS).....	47
TABELA 20 - Concentração de piruvato ($\mu\text{mol} / \text{ml}$ sangue), comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN).....	48
TABELA 21 - Concentração de lactato ($\mu\text{mol} / \text{ml}$ sangue), comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN).....	49
TABELA 22 - Concentração de glicose ($\mu\text{mol} / \text{ml}$ sangue), comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN).....	50

TABELA 23 - Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol} / \text{ml}$ sangue), comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN).....	51
TABELA 24 - Concentração de piruvato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN).....	52
TABELA 25 - Concentração de lactato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN).....	53
TABELA 26 - Concentração de glicose ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN).....	54
TABELA 27 - Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN).....	55
TABELA 28 - Concentração de ATP ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN).....	56
TABELA 29 - Concentração de piruvato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN).....	57
TABELA 30 - Concentração de lactato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN).....	58
TABELA 31 - Concentração de glicose ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN).....	59
TABELA 32 - Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN).....	60
TABELA 33 - Concentração de ATP ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN).....	61

TABELA 34 - Concentração de piruvato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN).....	62
TABELA 35 - Concentração de lactato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN).....	63
TABELA 36 - Concentração de glicose ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN).....	64
TABELA 37 - Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN).....	65
TABELA 38 - Concentração de ATP ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN).....	66
TABELA 39 - Concentração de piruvato ($\mu\text{mol} / \text{ml}$ sangue), comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN).....	67
TABELA 40 - Concentração de lactato ($\mu\text{mol} / \text{ml}$ sangue), comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN).....	68
TABELA 41 - Concentração de glicose ($\mu\text{mol} / \text{ml}$ sangue), comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN).....	69
TABELA 42 - Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol} / \text{ml}$ sangue), comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN).....	70
TABELA 43 - Concentração de piruvato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN).....	71
TABELA 44 - Concentração de lactato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN).....	72
TABELA 45 - Concentração de glicose ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN).....	73
TABELA 46 - Concentração de ATP ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN).....	74

TABELA 47 - Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN).....	75
TABELA 48 - Concentração de piruvato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN).....	76
TABELA 49 - Concentração de lactato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN).....	77
TABELA 50 - Concentração de glicose ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN).....	78
TABELA 51 - Concentração de ATP ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN).....	79
TABELA 52 - Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN).....	80
TABELA 53 - Concentração de piruvato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN).....	81
TABELA 54 - Concentração de lactato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN).....	82
TABELA 55 - Concentração de glicose ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN).....	83
TABELA 56 - Concentração de ATP ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN).....	84
TABELA 57 - Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN).....	85

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SINAIS CONVENCIONAIS

ADP	Difosfato de adenosina
ALA-GLN	L-alanil-glutamina
AMP	Adenosina monofosfato
ATP	Trifosfato de adenosina
CO ₂	Dióxido de carbono
DNA	Ácido desoxirribonucléico
E.P.M.	Erro Padrão da Média
et al.	E outros
G-1	Grupo 1
G-2	Grupo 2
G-3	Grupo 3
G-4	Grupo 4
G ₆ P	Glicose-6-fosfato
G ₆ PD	Glicose-6-fosfato desidrogenase
Gly-Gln	Glycil glutamina
H ⁺	Íon hidogênio
HClO ₄	Ácido perclórico
HCO ₃ ⁻	Íon bicarbonato
LABCEX	Laboratório de cirurgia experimental
LDH	Lactato desidrogenase
M	Molar
MgCl ₂	Cloreto de magnésio
mM	Milimolar
mmHg	Milímetros de mercúrio
M.P.E.	Membro pélvico esquerdo
n	Número de observações
NAD ⁺	Forma oxidada de nicotinamida adenina dinucleotídeo
NADH	Forma reduzida de nicotinamida adenina dinucleotídeo
NADP ⁺	Forma oxidada de nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
NADPH	Forma reduzida de nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato

NH ₃	Amônia
NH ₄ ⁺	Íon Amônio
nm	nanômetro
P	Probabilidade de significância
pH	Logaritmo decimal do inverso das atividades dos íons
RLO	Radicais livres de oxigênio
Rpm	Rotações por minuto
SS	Solução salina
T-0	Tempo zero
T-1	Tempo 1
T-2	Tempo 2
T-3	Tempo 3
T-4	Tempo 4
μM	Micromolar
μmol	Micromol

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE ABREVIATURAS

RESUMO

ABSTRACT

1 INTRODUÇÃO	01
1.1 Relevância do trabalho.....	01
1.2 Lesão isquêmica.....	01
1.3 Lesão de reperfusão.....	03
1.4 Modelos experimentais de isquemia do membro inferior.....	04
1.5 Glutamina.....	07
1.5.1 Metabolismo da glutamina no músculo esquelético.....	09
1.5.2 Metabolismo da glutamina no rim.....	10
1.5.3 Metabolismo da glutamina no fígado.....	10
1.6 L-Alanil-Glutamina.....	11
1.7 Considerações gerais.....	11
2 OBJETIVO	13
3 MÉTODO	14
3.1 Amostra.....	14
3.2 Delineamento do experimento.....	14
3.3 Técnica anestésica.....	16
3.4 Técnica operatória.....	17
3.5 Morte do animal.....	19
3.6 Técnica laboratorial.....	19
3.6.1 Princípios básicos de análise enzimática.....	20
3.6.2 Determinação dos metabólitos.....	21
3.7 Cálculos dos Metabólitos.....	27
3.8 Análise estatística.....	28

4 RESULTADOS.....	29
4.1 Modelos de Isquemia.....	29
4.1.1 Sangue.....	29
4.1.1.1 Comparação entre os grupos G-1 (<i>Sham</i> salina) e G-2 (Isquemia salina) - Sangue - Piruvato.....	29
4.1.1.2 Comparação entre os grupos G-1 (<i>Sham</i> salina) e G-2 (Isquemia salina) - Sangue - Lactato.....	30
4.1.1.3 Comparação entre os grupos G-1 (<i>Sham</i> salina) e G-2 (Isquemia salina) - Sangue - Glicose.....	31
4.1.1.4 Comparação entre os grupos G-1 (<i>Sham</i> salina) e G-2 (Isquemia salina) - Sangue - Corpos cetônicos.....	32
4.1.2 Rim.....	33
4.1.2.1 Comparação entre os grupos G-1 (<i>Sham</i> salina) e G-2 (Isquemia salina) - Rim - Piruvato.....	33
4.1.2.2 Comparação entre os grupos G-1 (<i>Sham</i> salina) e G-2 (Isquemia salina) - Rim - Lactato.....	34
4.1.2.3 Comparação entre os grupos G-1 (<i>Sham</i> salina) e G-2 (Isquemia salina) - Rim - Glicose.....	35
4.1.2.4 Comparação entre os grupos G-1 (<i>Sham</i> salina) e G-2 (Isquemia salina) - Rim - Corpos cetônicos.....	36
4.1.2.5 Comparação entre os grupos G-1 (<i>Sham</i> salina) e G-2 (Isquemia salina) - Rim - ATP.....	37
4.1.3 Fígado.....	38
4.1.3.1 Comparação entre os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-2 (Isquemia salina) - Fígado - Piruvato.....	38
4.1.3.2 Comparação entre os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-2 (Isquemia salina) - Fígado - Lactato.....	39
4.1.3.3 Comparação entre os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-2 (Isquemia salina) - Fígado - Glicose.....	40
4.1.3.4 Comparação entre os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-2 (Isquemia salina) - Fígado - Corpos cetônicos.....	41
4.1.3.5 Comparação entre os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-2 (Isquemia salina) - Fígado - ATP.....	42

4.1.4 Músculo.....	43
4.1.4.1 Comparação entre os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-2 (Isquemia salina) - Músculo - Piruvato.....	43
4.1.4.2 Comparação entre os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-2 (Isquemia salina) - Músculo - Lactato.....	44
4.1.4.3 Comparação entre os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-2 (Isquemia salina) - Músculo - Glicose.....	45
4.1.4.4 Comparação entre os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-2 (Isquemia salina) - Músculo - Corpos cetônicos.....	46
4.1.4.5 Comparação entre os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-2 (Isquemia salina) - Músculo - ATP.....	47
4.2 Efeito L-Alanil-Glutamina no Trauma.....	48
4.2.1 Sangue.....	48
4.2.1.1 Comparação entre os grupos G-1 (<i>Sham</i> salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN) - Sangue - Piruvato.....	48
4.2.1.2 Comparação entre os grupos G-1 (<i>Sham</i> salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN) - Sangue - Lactato.....	49
4.2.1.3 Comparação entre os grupos G-1 (<i>Sham</i> salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN) - Sangue - Glicose.....	50
4.2.1.4 Comparação entre os grupos G-1 (<i>Sham</i> salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN) - Sangue - Corpos cetônicos.....	51
4.2.2 Rim.....	52
4.2.2.1 Comparação entre os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN) - Rim - Piruvato.....	52
4.2.2.2 Comparação entre os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN) - Rim - Lactato.....	53
4.2.2.3 Comparação entre os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN) - Rim - Glicose.....	54
4.2.2.4 Comparação entre os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN) - Rim - Corpos cetônicos	55
4.2.2.5 Comparação entre os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN) - Rim - ATP.....	56

4.2.3 Fígado.....	57
4.2.3.1 Comparação entre os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN) - Fígado - Piruvato.....	57
4.2.3.2 Comparação entre os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN) - Fígado - Lactato.....	58
4.2.3.3 Comparação entre os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN) - Fígado - Glicose.....	59
4.2.3.4 Comparação entre os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN) - Fígado - Corpos cetônicos.....	60
4.2.3.5 Comparação entre os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN) - Fígado - ATP.....	61
4.2.4 Músculo.....	62
4.2.4.1 Comparação entre os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN) - Músculo - Piruvato.....	62
4.2.4.2 Comparação entre os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN) - Músculo - Lactato.....	63
4.2.4.3 Comparação entre os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN) - Músculo - Glicose.....	64
4.2.4.4 Comparação entre os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN) - Músculo - Corpos cetônicos.....	65
4.2.4.5 Comparação entre os grupos G-1 (<i>Sham</i> Salina) e G-3 (<i>Sham</i> ALA-GLN) - Músculo - ATP.....	66
4.3 Efeito L-Alanil-Glutamina sobre a lesão de Isquemia/Reperusão.....	67
4.3.1 Sangue.....	67
4.3.1.1 Comparação entre os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN) - Sangue - Piruvato.....	67
4.3.1.2 Comparação entre os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN) - Sangue - Lactato.....	68
4.3.1.3 Comparação entre os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN) - Sangue - Glicose.....	69
4.3.1.4 Comparação entre os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN) - Sangue - Corpos cetônicos.....	70

4.3.2 Rim.....	71
4.3.2.1 Comparação entre os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN) - Rim - Piruvato.....	71
4.3.2.2 Comparação entre os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN) - Rim - Lactato.....	72
4.3.2.3 Comparação entre os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN) - Rim - Glicose.....	73
4.3.2.4 Comparação entre os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN) - Rim - ATP.....	74
4.3.2.5 Comparação entre os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN) - Rim - Corpos cetônicos.....	75
4.3.3 Fígado.....	76
4.3.3.1 Comparação entre os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN) - Fígado - Piruvato.....	76
4.3.3.2 Comparação entre os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN) - Fígado - Lactato.....	77
4.3.3.3 Comparação entre os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN) - Fígado - Glicose	78
4.3.3.4 Comparação entre os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN) - Fígado - ATP.....	79
4.3.3.5 Comparação entre os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN) - Fígado - Corpos cetônicos.....	80
4.3.4 Músculo.....	81
4.3.4.1 Comparação entre os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN) - Músculo - Piruvato.....	81
4.3.4.2 Comparação entre os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN) - Músculo - Lactato.....	82
4.3.4.3 Comparação entre os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN) - Músculo - Glicose.....	83
4.3.4.4 Comparação entre os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN) - Músculo - ATP.....	84
4.3.4.5 Comparação entre os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN) - Músculo - Corpos cetônicos.....	85

5 DISCUSSÃO	86
6 CONCLUSÕES	101
7 REFERÊNCIAS	102
8 APÊNDICE A	108
9 ANEXO A	116

1 INTRODUÇÃO

1.1 Relevância do trabalho

A isquemia arterial conseqüente à aterosclerose obliterante crônica contribui de modo significativo, no homem, para o crescente número de amputações de membros inferiores decorrente, em parte, pela maior longevidade da população mundial (WEISS, 1990).

A doença oclusiva arteriosclerótica é uma doença insidiosa, de gradativa e crescente progressão, comprometendo a irrigação dos membros inferiores, produzindo graus variáveis de obstrução intraluminal e conseqüente restrição ao fluxo sangüíneo das artérias femorais, poplíteas e seus ramos terminais. A isquemia é um dos problemas mais freqüentes e graves dentre as doenças vasculares, ocasionando uma morbidade elevada, com perda de membros ou pondo em risco a própria vida. No seu estágio mais avançado, a restrição do fluxo sangüíneo ao membro inferior é reduzida ou cessa completamente, comprometendo uma ou mais artérias situadas abaixo do ligamento inguinal (VEITH et al., 1990). Além da isquemia ser bastante lesiva, a reperfusão de tecidos isquêmicos pode levar a uma série de complicações que podem aumentar as lesões teciduais e, através de alterações sistêmicas, colocar em risco a vida do paciente.

O músculo esquelético representa 70 a 75% de toda a massa dos membros inferiores e apresenta uma tolerância relativa à isquemia, em parte devida à sua baixa taxa metabólica em repouso, seu grande armazenamento de glicogênio e creatina e sua habilidade em manter as funções celulares básicas, na vigência da isquemia, através da glicólise anaeróbica (PERRY, 1988; QUIÑONES, 1989).

Neste trabalho, utilizar-se-á L-Alanil Glutamina para pesquisar efeitos sobre o tecido muscular, fígado, rim e sangue arterial submetidos à isquemia e à reperfusão em diferentes tempos da experiência.

1.2 Lesão isquêmica

A Isquemia é definida como sendo o fluxo arterial insuficiente para manter as funções normais teciduais, isto é, a diminuição de nutrientes (glicose,

oxigênio, proteínas, vitaminas, enzimas, etc) para os tecidos e o retardo na retirada dos metabólitos. A carência de oxigênio provoca alterações diretas nas mitocôndrias, o que ocasiona diminuição da fosforilação oxidativa e, conseqüentemente, dos níveis de ATP. A queda dos níveis de ATP compromete totalmente o sistema de produção protéica celular e a bomba de sódio e potássio, aumentando os níveis de cálcio e levando à tumefação celular. Até aqui os danos são reversíveis. Com a persistência da isquemia, ocorre uma vacuolização das mitocôndrias, as quais podem ser vistas, segundo Cotran et al. (1966), 30 a 40 min. após a isquemia nos tecidos. Portanto, a isquemia provoca lesões reversíveis e irreversíveis, as quais são devidas, principalmente, à alteração dos níveis de ATP e cálcio. A gravidade dependerá do percentual obstruído da artéria e da qualidade de suas colaterais. A tolerância isquêmica varia de acordo com o tecido considerado na seguinte ordem: tecido nervoso, células musculares estriadas, pele, tecido celular subcutâneo, e finalmente tecido ósseo. A isquemia pode ser total quando o fluxo arterial for insuficiente para manter a vida celular ou tecidual, ou parcial, que mantém a viabilidade celular, porém com o risco de evoluir para a morte celular, dependendo da nobreza do tecido e do tempo de isquemia. Já a hipóxia é somente a diminuição de oferta de oxigênio aos tecidos, mas também lesiva aos tecidos. Quatro componentes estruturais e funcionais são particularmente sensíveis à hipóxia decorrente da isquemia:

1. A membrana celular, responsável principal pelo equilíbrio iônico e osmótico.
2. A respiração aeróbica, que compreende, entre outros eventos, a fosforilação oxidativa e a produção de ATP (adenosina-trifosfatada).
3. A síntese de proteínas estruturais e enzimáticas.
4. O componente genético (cromatina) responsável pela reprodução celular (COTRAN *et al.*, 1996).

Na luta pela sobrevivência, o organismo lança mão da respiração anaeróbica com a finalidade de manter as fontes de energia celular. Assim, há diminuição de ATP celular e aumento de AMP, estimulando as atividades enzimáticas da fosfofrutoquinase e da fosforilase, o que resulta no aumento da taxa de glicólise anaeróbica com geração de ATP a partir do glicogênio, cujas fontes são rapidamente exauridas. A opção da via anaeróbica e a conseqüente glicólise propiciam o acúmulo de ácido láctico e fosfatos inorgânicos pela hidrólise de ésteres

de fosfato. Esse processo reduz o pH intracelular, ocorrendo, neste período inicial, uma aglomeração da cromatina nuclear, aparentemente causada pelo pH reduzido (COTRAN *et al.*, 1996).

A depleção de ATP viabiliza a tumefação celular aguda, um dos primeiros eventos da lesão isquêmica, pois tal situação afeta a bomba de sódio, cuja função é manter a concentração intracelular deste íon menor que a extracelular. Bloqueada a bomba de sódio pela baixa produção de ATP, o sódio se acumula intracelularmente, havendo difusão de potássio para fora da célula. Ocorre, então, ganho de soluto intracelular, disso resultando edema celular (tumefação celular aguda), dilatação do retículo endoplasmático, tumefação das mitocôndrias, descolamento dos ribossomos e aparecimento de vesículas na superfície celular (COTRAN *et al.*, 1996).

Persistindo a hipóxia, ocorrem outros fenômenos mais graves, como alterações do retículo endoplasmático, dissociação de lipoproteínas, maior tumefação mitocondrial, alterações progressivas na integridade da membrana celular, com aumento da sua permeabilidade. Mantida a isquemia, há degradação mitocondrial avançada, influxo intenso de cálcio para o interior da célula, lesão do cito-esqueleto e desintegração progressiva da membrana celular. A ativação de várias enzimas e co-enzimas (fosfolipases, proteases e endonucleases) e a degradação dos fosfolipídios intensificam o dano sobre a membrana celular, levando à sua ruptura, com extravasamento de glicosidases, fosfatases, proteases e DNA-ases. A ativação de enzimas conduz à lise dos componentes celulares, caracterizando a irreversibilidade das lesões: a morte celular (COTRAN *et al.*, 1996).

1.3 Lesão de reperfusão

A lesão de reperfusão é um termo usado para descrever as alterações funcionais e estruturais, que se tornam aparentes durante o restabelecimento do fluxo após um período de isquemia. O afluxo de sangue oxigenado aos tecidos previamente desprovidos de oxigênio é fundamental para o reinício do metabolismo aeróbico. Paradoxalmente, associado ao efeito benéfico da reperfusão, ocorrem fenômenos deletérios: necrose de células irreversivelmente lesadas, acentuado edema celular e restauração não-uniforme do fluxo para todas as porções dos tecidos. Essa restauração caótica do fluxo tissular é conhecida como fenômeno do “não refluxo”, no qual interagem múltiplos fatores, tais como um círculo vicioso de

disfunção endotelial vascular, a redução da perfusão local e acentuação do edema (EVORA *et al.*, 1996).

Durante a reperfusão, ocorre formação excessiva de radicais livres de oxigênio (RLO). São moléculas compostas de oxigênio parcialmente reduzido, com elétron não pareado na capa externa, altamente instáveis e reativas, podendo causar intensa ação tóxica aos componentes celulares. Os radicais livres de oxigênio que são liberados no momento da reperfusão são responsáveis pela lise celular, além de ativar o processo peroxidativo das biomembranas lipídicas, levando, assim, ao dano tecidual. Em condições de homeostase, estes radicais são produzidos em pequena quantidade e prontamente inativados antes de provocar danos significativos (COTRAN *et al.*, 1996).

Os principais radicais livres são o superóxido, o peróxido de hidrogênio, os íons hidroxila e, eventualmente, o óxido nítrico. Eles podem ser produzidos por várias enzimas oxidativas em diferentes locais da célula: citosol, mitocôndrias, lisossomos, peroxissomos e membrana citoplasmática.

A lesão de reperfusão, diferentemente da lesão isquêmica, é capaz de produzir alteração sistêmica, e não apenas nos locais acometidos pelo fenômeno. Portanto, o restabelecimento do fluxo sanguíneo para uma área isquêmica pode ocasionar lesão em todo o organismo.

1.4 Modelos experimentais de isquemia do membro inferior

A isquemia crônica do membro inferior em humanos depende da intensidade da obstrução de múltiplas artérias, do desenvolvimento de colaterais e do tempo de evolução da doença.

Modelos experimentais de isquemia persistente, comparáveis à isquemia observada no homem, são de difícil preparação. Isso se deve à extraordinária habilidade desses animais, que rapidamente contornam o problema, desenvolvendo vasos colaterais eficientes na perfusão do segmento comprometido, inviabilizando o estudo experimental do fenômeno obstrutivo. A simples ligação das artérias ilíacas ou femorais é inadequada para a obtenção de uma isquemia muscular satisfatória (SEIFERT *et al.*, 1985; CHARLLISS *et al.*, 1986).

Modelos experimentais de isquemia, com múltiplas ligaduras dos ramos das artérias ilíacas, femoral comum e femorais profundas produzem isquemia de

curta duração em cães (BARIE; MULLINS, 1988). Por outro lado, a ligadura da aorta abdominal produz efeitos diferentes nos vários animais utilizados em estudos experimentais (KELTS; KAISER, 1979).

No rato, a ligadura da artéria femoral é improdutiva para a obtenção de isquemia adequada em decorrência de sua particular disposição arterial, pois esse animal não tem a artéria femoral profunda e apresenta, em substituição, numerosas colaterais que asseguram o fluxo sangüíneo ao membro pélvico desses animais.

Seifert *et al.* (1985) demonstraram que a ligadura da artéria femoral produzia, após duas horas da conclusão da ligadura, redução importante (66%) do fluxo sangüíneo; entretanto, após cinco dias, o fluxo sangüíneo retornava aos níveis pré-ligadura arterial.

Couffinhal *et al.* (1998) utilizaram ratos submetidos à isquemia do membro pélvico no estudo da angiogênese. A isquemia foi induzida por ligadura e excisão da artéria femoral do membro objeto do estudo.

Kanno *et al.* (1999) obtiveram isquemia crônica em ratos machos adultos (Sprague-Dawley) removendo a artéria femoral esquerda desde sua origem até seu ponto de bifurcação nas artérias femoral e poplítea.

Duan *et al.* (2000) obtiveram isquemia crônica do membro pélvico de ratos removendo completamente a artéria e a veia femoral. Realizado o procedimento, o fluxo sangüíneo ao membro inferior passava a ser inteiramente dependente dos vasos colaterais originários da artéria ilíaca interna.

Hong *et al.* (2001) utilizaram a excisão de um segmento da artéria femoral, estendendo-se da artéria ilíaca externa à artéria poplítea, para a obtenção de isquemia crônica (seis semanas de duração) em coelhos.

Tupling *et al.* (2001) obtiveram a isquemia distal (4 horas) do membro pélvico de ratas Sprague-Dawley adultas, colocando um torniquete próximo à articulação do joelho do animal e aplicando uma pressão de 350 mmHg. A isquemia foi confirmada pela depleção do ATP muscular.

Lloyd; Yang e Terjung (2001) estudaram os efeitos da isquemia crônica sobre a angiogênese em ratos. A isquemia foi obtida pela ligadura da artéria femoral na região inguinal.

Lundberg *et al.* (2003) desenvolveram um modelo de isquemia crônica (8 semanas) para estudar seus efeitos sobre a angiogênese. Os pesquisadores

submeteram ratos Sprague-Dawley à ligadura de todos os vasos originários do segmento infra-renal da aorta abdominal e das artérias ilíacas.

Zaccagnini *et al.* (2003) induziram isquemia aguda em membro pélvico de camundongos por isolamento e ligadura da artéria femoral.

Lu *et al.* (2003) obtiveram isquemia do membro pélvico de coelhos por ligadura da artéria ilíaca distal e das artérias femorais superiores.

Torres *et al.* (2003) estudaram os efeitos da isquemia aguda em membro pélvico de ratos Wistar. A isquemia foi obtida pela oclusão total da artéria ilíaca comum esquerda com delicada pinça vascular oclusiva, tipo buldogue, e a eficiência da isquemia foi confirmada pelo desaparecimento do fluxo arterial ao uso do estetoscópio ultra-sônico “*Doppler*”, pela percepção visual da ausência dos pulsos arteriais e pela instalação da cianose na musculatura do membro pélvico esquerdo (MPE).

Sugano, Tsuchida e Makino (2004) obtiveram isquemia crônica do membro pélvico de ratos por remoção da artéria femoral.

Babuccu *et al.* (2004) estudaram vários modelos de isquemia do membro pélvico de ratos Wistar adultos, utilizando a cintilografia. Os métodos estudados foram: Ligadura da artéria ilíaca; ligadura da artéria ilíaca e seus ramos exceto, a artéria epigástrica superficial; ligadura dos vasos ilíacos (artéria e veias ilíacas); ligadura da artéria ilíaca e todos os seus ramos, incluindo a artéria epigástrica superficial; ligadura da artéria ilíaca e todos os seus ramos, acrescida de uma incisão cutânea em torno do membro pélvico; garroteamento do membro ao nível da pélvis

Após duas horas de isquemia, os pesquisadores estudaram o fluxo sanguíneo do membro isquêmico e concluíram que os procedimentos [1-4] acima descritos proporcionavam redução do fluxo, descrita com o “low-flow state”. O procedimento (ligadura da artéria ilíaca e todos os seus ramos) produzia importante isquemia do membro, ao passo que o garroteamento do membro ao nível da pélvis resultava em isquemia quase completa do membro pélvico .

Akgun *et al.* (2004) utilizaram o garroteamento do membro para obtenção da isquemia do membro pélvico em ratos.

1.5 Glutamina

Nos idos de 1833, os pesquisadores Schultze e Bosshard descreveram uma substância extraída da beterraba, degradável quando aquecida em meio ácido em ácido glutâmico e amônia, denominando-a glutamina. Anos mais tarde, Ritthausen (1866) anunciou a descoberta de “uma nova substância” encontrada em proteínas do tremoço e da amêndoa, obtida da ebulição do glúten na presença do ácido sulfúrico e que seria “um ácido monobásico contendo nitrogênio” (MARINHO, 1995). A substância descoberta, consagrada como uma amina, é, na realidade, uma amida, sendo o seu nome correto glutamida (FELTRE, 1998). Todavia, tempo e uso consagraram a denominação equivocada.

A fórmula empírica da glutamina é $C_nH_nO_nN_n$, a fórmula molecular é $C_5H_{10}O_3N_2$ e a fórmula estrutural está representada na Figura 1, abaixo.

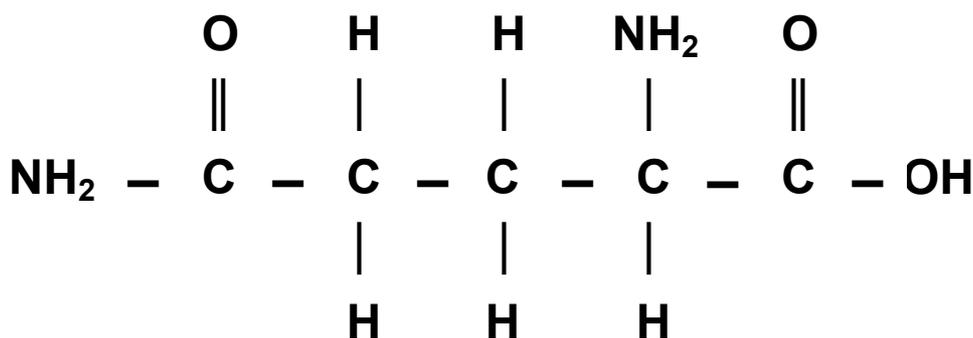


FIGURA 1 - Fórmula estrutural da glutamina (adaptada de Roskoski, 1997)

A fórmula estrutural mostra que a glutamina é um ácido carboxílico biaminado, característica que compartilha com asparagina e a lisina (ROSKOSKI, 1997), alinhando-se na categoria dos aminoácidos com grupos polares sem carga (LEHNINGER, 2000).

Krebs, em 1935, demonstrou a capacidade de síntese da glutamina e sua degradação, por hidrólise, nos tecidos animais. A glutamina é um aminoácido com características únicas dentre os demais aminoácidos que compõem o corpo humano. Considerada um aminoácido não essencial, mercê de sua síntese no organismo vivo, a glutamina pode, em condições especiais, tornar-se aminoácido essencial, quando as disponibilidades se tornam inferiores às necessidades do organismo, exigindo um aporte externo.

A glutamina é abundantemente distribuída no organismo, sendo o aminoácido de maior concentração no sangue e tecidos sob a forma livre (L-glutamato), onde participa de inúmeros processos metabólicos. A importância específica da glutamina para a economia orgânica foi documentada por Krebs que encontrou diferentes concentrações das enzimas fundamentais para o seu metabolismo: glutaminase, presente principalmente no fígado e glutamina-sintetase no tecido muscular esquelético (KREBS, 1935).

A glutamina, ou mais especificamente a L-glutamina, é importante como precursora da síntese de peptídios e proteínas, açúcares aminados, purina e pirimidina, ácido nucléico e nucleotídeos, além de fornecer o elemento carbono para processos oxidativos nas células, sob a ação da enzima glutaminase, encontrada em altas concentrações nas mitocôndrias das células que utilizam o metabólito com maior avides, notadamente o fígado (NEWSHOLME *et al.*, 2003).

A FIGURA 2 resume as principais interações da glutamina no organismo.



FIGURA 2 – Principais interações da glutamina no organismo

A L-glutamina não pode atravessar a barreira imposta pela membrana celular, devido à carga elétrica total de (-1) em pH 7,4. Por outro lado, os aminoácidos capazes de realizar o transporte do L-glutamato para o interior das células apresentam reduzida concentração na membrana celular, exceto nas células especializadas na utilização desse substrato, localizadas no sistema nervoso central (PITHON-CURI, 2002).

A glutamina insere-se no ciclo do ácido cítrico através do ácido α -cetoglutarico, em que pode converter-se pela ação da glutaminase. É parcela constitutiva da glutathione juntamente com a cisteína e a glicina, contribuindo para o importante processo de detoxificação dos radicais livres oxidantes (COTRAN, 1996) e para o transporte de aminoácidos no nefron e no jejuno (ROSKOSKI, 1997). É ainda parte do complexo sistema carreador (lançadeira) malato-aspartato, que promove a produção de NAD intra-mitochondrial (LEHNINGER, 2000).

As reservas de glutamina do músculo esquelético exercem importante papel na homeostase, atuando como estoque lábil de nitrogênio que será mobilizado nessas situações de estresse (JEPSON, 1988).

1.5.1 *Metabolismo da glutamina no músculo esquelético*

O tecido muscular desempenha função primordial na síntese de glutamina, respondendo por cerca de 90% da produção total deste metabólito no corpo humano. Estudos quantitativos demonstraram, em humanos, que, nos estados pós-absortivos, 60% dos aminoácidos liberados no organismo são compostos de alanina e glutamina (NEWSHOLME; PARRY-BILLINGS, 1990; NEWSHOLME *et al.*, 1999).

No músculo em repouso, seis aminoácidos são metabolizados: leucina, isoleucina, valina, asparagina, aspartato e glutamato (WAGENMAKERS, 1998). Esses aminoácidos liberam os grupamentos amino e, possivelmente, a amônia necessária para a síntese de glutamina e alanina, aminoácidos utilizados em quantidades excessivas no estado pós-absortivo, no decurso de refeições ricas em proteínas. Outras condições, tais como o estresse condicionado por traumatismos e queimaduras, estimulam a liberação da glutamina muscular (NEWSHOLME *et al.*, 1988; HAMMARQVIST; EJESSION B.; WERNERMAN, 2001).

Saliente-se que somente as moléculas de leucina e isoleucina podem ser oxidadas no tecido muscular após sua conversão em Acetil-CoA. Os átomos de carbono restantes são utilizados para a nova síntese de metabólitos intermediários do ciclo do ácido tricarbóxico, também conhecido com ciclo de Krebs, e da glutamina. Esta etapa metabólica oxidativa é limitada, pela disponibilidade de intermediários do ciclo de Krebs (NEWSHOLME *et al.*, 2003).

1.5.2 *Metabolismo da glutamina no rim*

A glutamina é, quantitativamente, o maior fornecedor de nitrogênio ao rim, sob a forma de NH_3 , obtido pela degradação enzimática (glutaminase) do aminoácido. No interior dos túbulos renais, o NH_3 se combina com H^+ , fornecido pelo ácido carbônico, para formar NH_4^+ , que é excretado na urina. O HCO_3^- resultante entra na circulação sanguínea, onde desempenha papel fundamental na manutenção do pH sanguíneo, o que torna a glutamina essencial para a manutenção do equilíbrio ácido-básico do sangue (GSTRAUNTHALER et al., 2000; CURTHOYS; GSTRAUNTHALER, 2001).

Por outro lado, o esqueleto carbônico resultante da ação da glutaminase sobre a glutamina é utilizado na gliconeogênese. Cerca de 25% da glicose circulante no sangue é obtida através desta via metabólica (STUMVOLL et al., 1999).

Nos longos períodos de hipoglicemia, acompanhados de acidose por aumento da cetonemia, a gliconeogênese renal desempenha um papel fundamental no fornecimento de matéria prima (glicose) para a produção de energia (OWEN et al., 1969).

1.5.3 *Metabolismo da glutamina no fígado*

O fígado pode ser considerado a grande central metabólica do organismo. O nitrogênio oriundo dos tecidos periféricos (principalmente do músculo e pulmão) é prontamente ofertado aos órgãos centrais sob a forma de glutamina, alanina e aspartato, desde que a captação e o metabolismo da glutamina no intestino se processem normalmente (YOUNG.; AJAMI, 2001).

Como as células peri-portais do fígado são ricas em glutaminase, a degradação da glutamina desempenha papel importante no controle dos níveis de amônia no sangue venoso, pois a síntese e a hidrólise da glutamina são etapas intermediárias na formação da uréia. O fígado, por sua vez, utiliza a amônia sanguínea para formar glutamina (HAUSSINGER, 1986).

1.6 L-Alanil-Glutamina

O uso da glutamina tem algumas limitações decorrentes de algumas de suas características físico-químicas. A forma livre de glutamina (L-glutamina) possui pouca solubilidade em solução aquosa e baixa estabilidade em pH baixo e temperaturas elevadas. No organismo, a L-glutamina pode sofrer conversão espontânea, formando piroglutamato e amônia, produtos tóxicos ao organismo humano.

Diante dessas limitações, a opção de uso deste aminoácido na forma de peptídeos, tais como a glicil-glutamina (Gly-Gln) ou a L-alanil-glutamina (L-Ala-Gln) que apresentam alta solubilidade em água e estabilidade durante os procedimentos de preparo, armazenamento e administração das soluções nutricionais, tem sido a opção de inúmeros pesquisadores (BEZERRA FILHO *et al.*, 2002; TORRES *et al.*, 2003; CAMPOS *et al.*, 2003; ALVES *et al.*, 2003; GUIMARÃES FILHO *et al.*, 2004). Uma vez ofertado na corrente sangüínea, o dipeptídeo L-alanil-glutamina (FIGURA 3) sofre hidrólise liberando moléculas de aminoácidos livres alanina e glutamina (SOUBA, 1993).

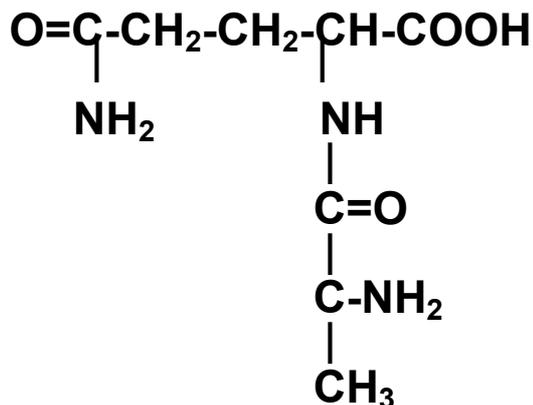


FIGURA 3 - Representação estrutural da L-alanil-glutamina

A isquemia e as conseqüências deletérias da reperfusão representam um desafio ao tratamento das obstruções agudas e crônicas dos membros inferiores. O tratamento conservador com drogas anticoagulantes, trombolíticas e vasodilatadoras é ineficaz nos casos mais avançados. Resta ao cirurgião o tratamento invasivo, restabelecendo o fluxo sangüíneo do membro afetado, utilizando, para isso, técnicas

avançadas de desobstrução e substituição vascular. A amputação mutilante é evitada, mas as alterações metabólicas e a produção excessiva de radicais livres, liberados na circulação pelos tecidos previamente isquêmicos, com seu cortejo de efeitos indesejáveis, é inevitável. O uso de drogas capazes de assegurar o retorno das funções normais dos tecidos é a esperança dos pesquisadores. Neste contexto, a glutamina desempenha um importante papel no organismo.

Prem (1999) demonstrou o efeito protetor da glutamina em ratos submetidos à isquemia/reperfusão dos membros pélvicos, sugerindo que esse efeito poderia estar relacionado ao bloqueio de recrutamento de leucócitos, ao longo do tempo de reperfusão.

Estudos comprovaram os efeitos benéficos da oferta exógena de glutamina, administrada por via enteral ou parenteral, nos pacientes gravemente enfermos, vítimas no pós-operatório de grandes procedimentos cirúrgicos, e nos pacientes vítimas de trauma (NEWSHOLME, 2001). Assim, são bem-vindos todos os estudos que buscam uma melhor compreensão dos efeitos da oferta exógena desse aminoácido a animais submetidos ao fenômeno de isquemia/reperfusão, abrindo novas perspectivas de tratamento da isquemia dos membros inferiores.

2 OBJETIVO

É objetivo deste estudo verificar os efeitos do pré-tratamento com L-alanil-glutamina, administrada por gavagem, sobre o metabolismo intermediário durante a lesão de isquemia/reperfusão, mediante o estudo das concentrações sanguíneas e tissulares, *in vivo*, dos metabólitos ATP, glicose, piruvato, e lactato e corpos cetônicos, em ratos submetidos à isquemia/reperfusão do membro pélvico esquerdo.

3 MÉTODO

3.1 Amostra

O projeto de pesquisa foi submetido à Comissão de Ética em Pesquisa Animal - CEPA, da Universidade Federal do Ceará, recebendo o número 04/2004. Foram obedecidas as normas estabelecidas pelo *Council for International Organization of Medical Sciences (CIOMS)* e os preceitos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal - COBEA.

Foram empregados 96 ratos albinos (*Mammalia rodentia muridae*) da linhagem Wistar, machos, adultos, saudáveis e bem-nutridos, com peso entre 400 e 450 gramas, obtidos do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará e mantidos no Laboratório de Cirurgia Experimental do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina (UFC). Os ratos permaneceram confinados em gaiolas-padrão de polipropileno (40cm × 30cm × 15cm) forradas com maravalhas e fechadas por grade de aço inoxidável, alojados em dependências com ventilação e iluminação controladas, obedecendo ao ritmo circadiano, recebendo água e ração apropriada, *ad libitum*, até 24 horas antes do início do experimento.

3.2 Delineamento do experimento

O experimento delineou-se segundo o diagrama apresentado abaixo (Figura 4):

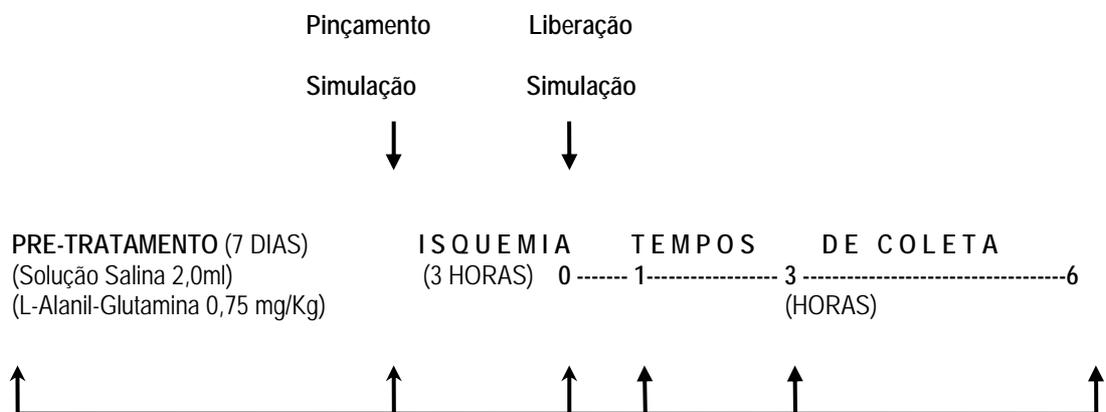


FIGURA 4 – Delineamento do experimento

Os animais foram distribuídos em 4 grupos (G-1, G-2, G-3 e G-4) e tratados, durante 7 dias, com 2,0ml de solução de cloreto de sódio a 0,9% (Grupos G-1 e G-2) ou solução de L-alanil-glutamina (L-Ala-Gln) a 20% (Dipeptiven-Laboratório Fresenius Kabi) na dose de 0,75g / kg de peso corporal (Grupos G-3 e G-4), completando-se o volume para 2,0ml, mantendo, assim, a uniformidade dos volumes administrados por gavagem, sempre no mesmo horário (7 horas) para evitar a variação circadiana, durante 7 dias consecutivos que antecederam o estudo propriamente dito. A gavagem foi realizada com o animal sob vigília, imobilizado por apreensão manual do dorso com a cabeça em hiperextensão, utilizando sonda metálica de ponta romba conectada à seringa descartável de 3ml contendo as soluções e introduzidas por gavagem no estômago (FIGURA 5). Os ratos de cada grupo foram distribuídos em 4 subgrupos, nomeados de acordo com o tempo de coleta das amostras e morte do animal.



FIGURA 5 – Técnica de gavagem

3.3 Técnica anestésica

A técnica escolhida foi a da anestesia por inalação de vapores de éter dietílico sem intubação traqueal e sem o emprego de suporte ventilatório. A indução anestésica foi levada a efeito colocando o animal sob campânula contendo chumaço de algodão embebido em éter dietílico. Atingido o nível adequado de narcose, o animal era retirado da campânula, colocado em decúbito dorsal e mantido em posição apropriada mediante a imobilização dos membros (Figura 6).



Figura 6 – Animal imobilizado e sob efeito anestésico

A anestesia foi mantida pela introdução intermitente das narinas do animal em tubo de plástico, de tamanho compatível, contendo chumaço embebido em éter dietílico.

3.4 Técnica operatória

Estando o animal sob narcose e posicionado sobre a mesa operatória, procedeu-se a tricotomia da região abdominal e à antissepsia da pele com Poli Vinil Pirrolidona Tópico (PVPI). Os animais dos Grupos G-1 e G-3, tratados com solução de cloreto de sódio a 0,9% (SS) e L-Ala-Gln, respectivamente, foram submetidos à operação simulada (*Sham*) três horas após a última gavagem, consistindo na laparotomia mediana, sob anestesia inalatória, identificação da artéria ilíaca comum esquerda, aplicação simulada da pinça vascular, que era prontamente retirada (Figura 7). Após fechamento da incisão, os animais voltavam ao alojamento. Passadas 3 horas, os ratos dos grupos G-1 e G-3 eram submetidos à nova operação simulada, seguindo-se a coleta de amostras (rim direito; 1,5 x 1,5cm de tecido hepático, lobo médio; músculo do membro pélvico esquerdo e 2ml de sangue arterial da aorta abdominal), para estudo (subgrupo T-0). Nos animais dos subgrupos T-1, T-3 e T-6, a coleta foi realizada decorridas 1, 3 e 6 horas do segundo procedimento simulado, novamente sob os efeitos da anestesia geral inalatória.

Os ratos dos grupos G-2 e G-4, também tratados com SS e L-Ala-Gln respectivamente, foram submetidos à laparotomia sob anestesia inalatória e isquemia por pinçamento da artéria ilíaca comum esquerda, utilizando pinça de tamanho adequado ao animal (Figura 8). Concluído o procedimento, os animais voltavam ao alojamento, onde permaneciam em jejum total. Decorridas 3 horas, era restaurado o fluxo sangüíneo ao membro pélvico por remoção da pinça vascular e coletadas amostras (subgrupo T-0), seguindo-se a interrupção da anestesia inalatória nos demais subgrupos, com retorno do animal à gaiola. Nos tempos pré-determinados (1, 3 e 6 horas após o início da reperusão), era realizada a coleta de amostras para estudo (músculo, fígado, rim e sangue arterial). A coleta do sangue arterial era feita por punção da aorta abdominal (Figura 9). Todos os procedimentos foram realizados sob anestesia geral inalatória.

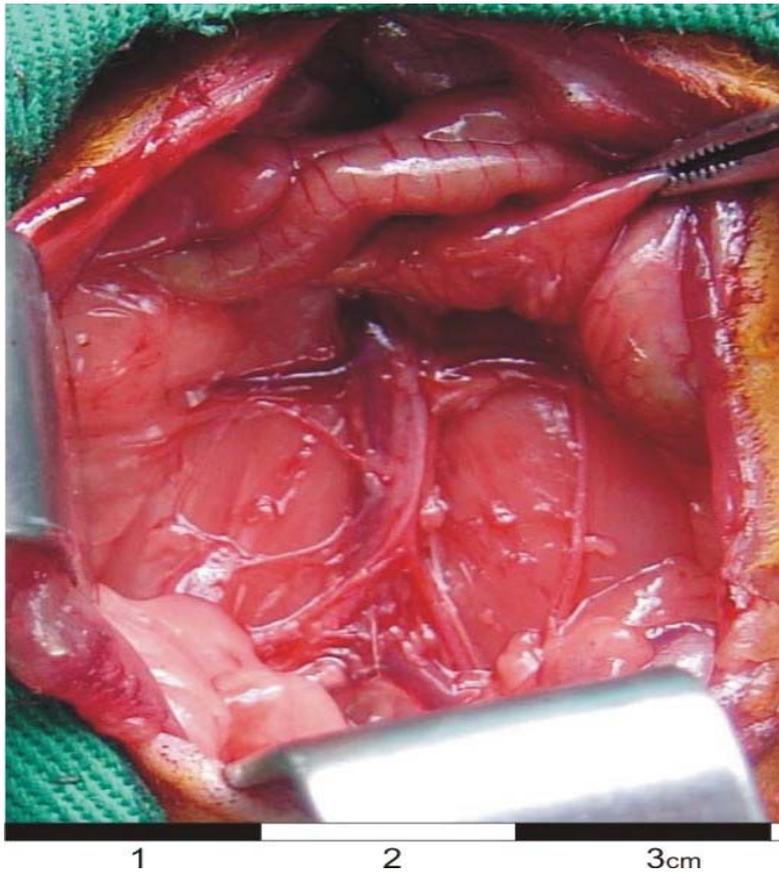


FIGURA 7 – Identificação da aorta e artérias ilíacas

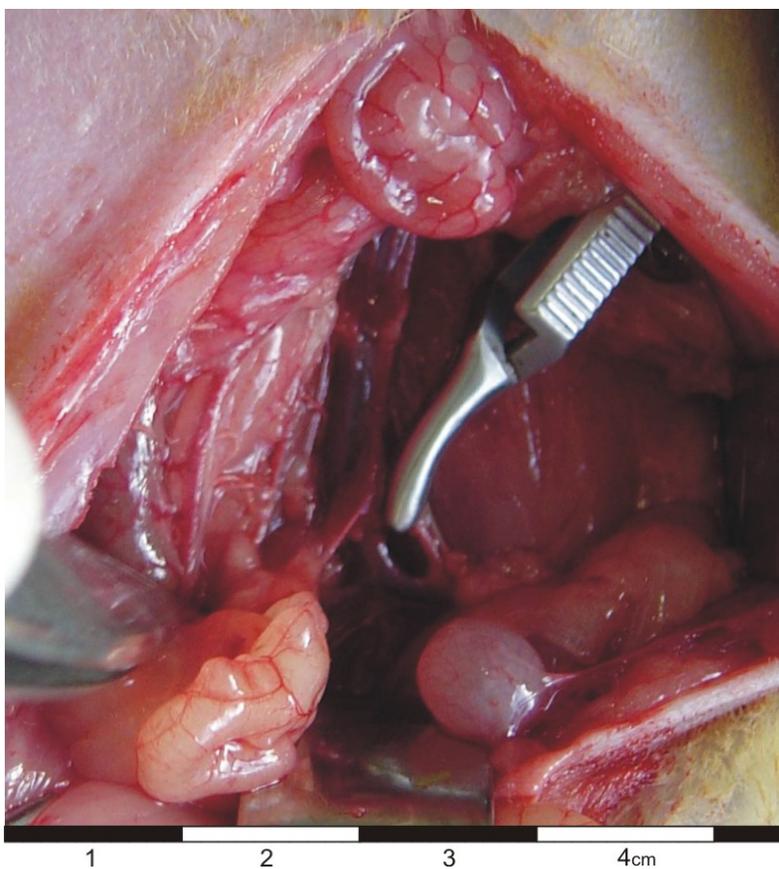


Figura 8 - Artéria ilíaca comum esquerda pinçada



FIGURA 9 – Punção aórtica

3.5 Morte do animal

O animal, após a retirada de amostras de músculo, fígado, rim e sangue, ainda sob efeito anestésico, era sacrificado por deslocamento cervical, provocando secção medular

3.6 Técnica laboratorial

Uma vez obtidas as amostras tissulares (músculo, fígado e rim), estas eram imediatamente prensadas e imersas em nitrogênio líquido, numa temperatura de -190°C , o que ocasiona a queda da temperatura tissular a -80°C , em um tempo inferior a 0,1 segundo (NEWSHOLME e LEECH, 1983). A seguir, o material resultante era triturado em gral e pistilo de porcelana até se transformar em pó fino. Durante esse procedimento, a baixa temperatura era mantida pelo acréscimo de nitrogênio líquido (WILLIAMSON, 1967). Os tecidos pulverizados eram colocados em tubos de ensaio de 10ml, individuais e devidamente identificados, contendo 5ml de ácido perclórico 0,75M e conservados em gelo.

A imersão do material pulverizado em solução ácida acarreta a rápida desnaturação das proteínas, provocando a sua precipitação. Após centrifugação por 10 minutos a 2000 rpm, era recolhido o líquido sobrenadante (extrato ácido) e desprezado o precipitado protéico.

O extrato ácido é colocado em tubos de ensaio de 10ml, previamente pesados. Os tubos são repesados e, por subtração, obtém-se um peso conhecido de extrato ácido.

A próxima etapa compreende a neutralização do extrato ácido. Um indicador universal de pH é acrescentado. Em seguida é adicionada a solução de hidróxido de potássio a 20% até que o indicador acuse pH neutro. Os tubos são repesados e centrifugados, como do modo anterior. O líquido sobrenadante, agora extrato neutro, era recolhido e constituía o substrato onde os metabólitos são dosados por método espectrofotométrico.

Os metabólitos piruvato e acetoacetato, em razão de sua instabilidade, devem ser dosados logo após a neutralização. Os demais, se congelados a -20°C , podem ser dosados dentro de 15 dias.

No presente experimento, foram dosados os seguintes metabólitos: piruvato, lactato, glicose, acetoacetato, hidroxibutirato e ATP.

3.6.1 Princípios básicos de análise enzimática

O ensaio enzimático destinado a determinar substratos metabólicos fundamenta-se no princípio de uma reação enzimática específica, na qual a participação do substrato se completa com a redução de $\text{NAD}^+/\text{NADP}^+$ ou oxidação de NADH/NADPH . Os nucleotídeos $\text{NAD}^+/\text{NADP}^+$ absorvem luz a 260nm e no estado reduzido (NADH/NADPH) têm uma absorção suplementar de, no máximo, 340nm. Deste modo, é possível, através de medida de densidade óptica a 340nm, acompanhar a conversão enzimática do substrato diretamente em uma cubeta no espectrofotômetro. A densidade óptica aumenta ou diminui em 6,22 unidades com a produção ou consumo de um micromol de NADH/NADPH , indiferentemente se NAD^+ aceita H^+ ou se NADH doa H^+ .

Em uma reação enzimática específica, um micromol de substrato reage com um micromol de $\text{NAD}^+/\text{NADP}^+$ (ou NADH/NADPH), e a alteração na densidade óptica traduzirá, rigorosamente, a quantidade de substrato consumida nessa reação.

Em condições ótimas de ensaio, a conversão de substrato é praticamente completa e a diferença da densidade óptica pode ser utilizada para o cálculo da concentração do referido substrato, multiplicando-se o resultado por um fator de diluição apropriado.

A especificidade de um ensaio enzimático depende da pureza da enzima, entretanto a precisão depende das condições ideais para a realização do ensaio. A sensibilidade do ensaio enzimático é limitada pelo fato de que a conversão de $\text{NAD}^+/\text{NADPH}$, ou vice-versa, deve ocorrer para que se produza a alteração mensurável da densidade óptica.

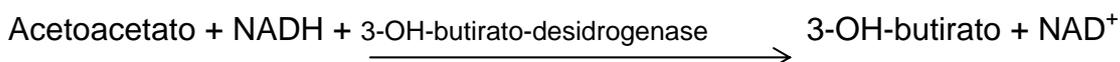
3.6.2 Determinação dos metabólitos

Os metabólitos no sangue da aorta e nos tecidos (rim, fígado e músculo) foram determinados por meio de ensaio enzimático. Foram incluídos neste experimento a D-glicose, os precursores da gliconeogênese (piruvato e lactato), os corpos cetônicos (acetoacetato e 3-hidroxiacetato) e o ATP. As concentrações dos metabólitos foram calculadas em $\mu\text{mol/g}$ de tecido fresco ou $\mu\text{mol/ml}$ de sangue.

Determinação do Piruvato e do Acetoacetato

Como o piruvato e o acetoacetato têm condições de ensaio similares, podem ser medidos seqüencialmente na mesma amostra e na mesma cubeta, de acordo com a combinação de métodos descritos por HOHORST *et al.* (1959) e WILLIAMSON *et al.* (1962), citados por Vasconcelos (1987).

Seqüência da reação:



O equilíbrio da primeira reação em pH 7,0 é suficientemente desviado para a direita, o que garante uma medida quantitativa dos níveis de piruvato, desde que a concentração de NADH não seja inferior a 0,01mM. Com o mesmo pH e com excesso de NADH compatível, pelo menos 98% do acetoacetato é reduzido para 3-hidroxiacetato. Devido à baixa atividade da preparação de 3-hidroxiacetato-desidrogenase, a segunda reação ocorre com uma velocidade inferior à primeira.

Solução tampão para ensaio:

10ml de fosfato de potássio a 0,1M, pH 6,9

1ml de NAD⁺ 0,5%

Para cada ensaio, foi preparada uma solução fresca. O volume total em cada cubeta constou de 2ml (=1ml de ácido perclórico + 1ml de solução tampão). A cubeta para controle continha igualmente 2ml (=1ml de água destilada e 1ml da solução tampão do ensaio). A leitura de cada cubeta no espectrofotômetro ocorreu antes e 10 (dez) minutos após adição de 0,01ml de lactato-desidrogenase a 340nm. A seguir, adicionou-se 0,01ml de 3-hidroxiacetato-desidrogenase em cada cubeta, as quais foram lidas novamente após 35 e 45 minutos.

Determinação do L-(+)-lactato

As concentrações de lactato foram determinadas no tecido muscular e sangue conforme o método de HOHORST (1963).

Seqüência da reação:



O equilíbrio da reação ocorre no lado do lactato e NAD⁺. Contudo, para garantir a completa conversão do lactato, devem ser removidos os produtos da reação. Por intermédio de uma reação alcalina, são aprisionados prótons; o piruvato

reage com hidrato de hidrazina na solução tampão, formando piruvato de hidrazona e, além disso, usa-se um grande excesso de NAD^+ e enzima para se obter rapidamente um ponto final da reação. Como a lactato-desidrogenase reage somente com o L-(+)-lactato, tal fato confere especificidade para o ensaio.

Solução tampão para o ensaio:

40ml de Tris 0,2M
 5ml de hidrato de hidrazina 100%
 25mg de EDTA
 Água destilada até completar 100ml

O pH da solução foi ajustado com ácido hidrocórico 5M para 9,5. Essa solução pode ser estocada a 4 graus centígrados por até duas semanas. No início do ensaio, 1ml de NAD^+ 1% foi adicionado a cada 10ml de solução tampão. Em cada cubeta, o volume total foi de 2ml (0,2ml da amostra neutralizada + 0,8ml de água destilada + 1ml de solução tampão contendo NAD^+ 1%). Todas as cubetas foram lidas a 340nm antes e 35 e 45 minutos após adição de 0,02ml de lactato-desidrogenase.

Determinação da D-(–)-3-hidroxiacetato

As concentrações deste metabólito no sangue e tecido muscular foram determinadas de acordo com o método proposto por Williamson *et al.* (1962).

Seqüência da reação:



Alcança-se o equilíbrio da reação com pH 8,0 quando aproximadamente 40% do 3-hidroxiacetato é oxidado para acetoacetato. Contudo a presença de hidrazina na solução tampão aprisiona o acetoacetato formado como uma hidrazina, seguindo a reação quantitativamente da esquerda para a direita.

Solução tampão para o ensaio:

70ml de solução Tris 0,1M, pH 8,5
 0,25ml de hidrato de hidrazina 100%
 25mg de EDTA
 Água destilada até completar 100ml

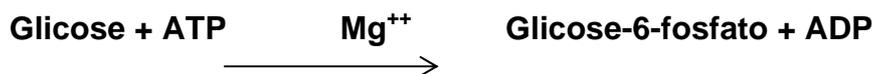
O pH da solução tampão do referido ensaio foi ajustado para 8,5 com ácido hidrolórico 5M. Essa solução pode ser armazenada a 4 graus centígrados até por duas semanas. Antes do início do ensaio, adicionou-se 1ml de NAD⁺ 1% a 10ml da solução tampão. Cada cubeta ficou com 2ml do volume total (0,5ml da amostra neutralizada + 0,5ml de água destilada + 1ml de solução tampão com NAD⁺). As cubetas foram lidas a 340nm antes e 50 e 60 minutos após adição de 0,01ml da enzima 3-hidroxi-butirato-desidrogenase.

Determinação da D-glicose

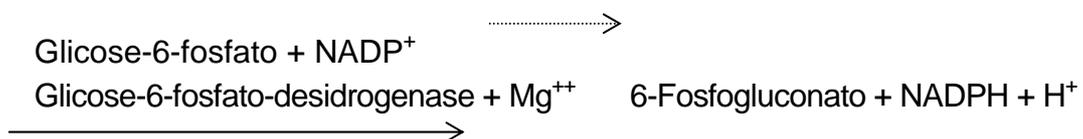
A glicose foi determinada seguindo o método descrito por Slein (1963).

Seqüência da reação:

a) Reação auxiliar



b) Reação indicadora



Com o pH 7,5 o equilíbrio da reação indicadora é desviado para a direita, o que garante o término completo de ambas as reações, uma vez que a glicose-6-fosfato formada na reação anterior é rapidamente usada na reação seguinte. Ainda que a hexoquinase catalise a fosforilação de vários outros monossacarídeos, a

especificidade do ensaio consiste em: a glicose-6-fosfato-desidrogenase (G₆PD) só reagir com a glicose-6-fosfato, não o fazendo com outras hexoses e pentoses.

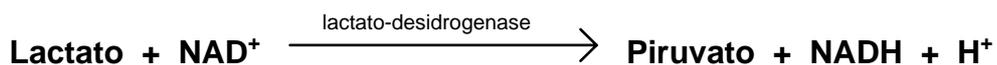
Solução tampão para o ensaio:

20ml de tampão Tris 0,1M, pH 8,0
 2ml de cloreto de magnésio 0,1M
 2ml de ATP 0,01M
 2ml de NAD⁺ 1%
 0,13ml de G₆PD (1mg/ml)

Esta solução foi renovada para cada ensaio. Cada cubeta tinha um volume total de 2ml (=0,1ml da amostra neutralizada + 0,9ml de água destilada + 1ml da solução tampão). A cubeta controle continha também 2ml (=1ml de água destilada + 1ml da solução tampão). Todas as cubetas foram lidas a 340nm antes, e 10 e 15 minutos após adição de 0,01ml de hexoquinase.

As concentrações de lactato foram determinadas no rim e sangue segundo a seqüência abaixo descrita:

Seqüência da reação:



O equilíbrio da reação ocorre no lado do lactato e NAD⁺. Todavia, para assegurar a completa conversão do lactato, é necessário remover os produtos da reação. O piruvato reage com hidrato de hidrazina na solução tampão, formando piruvato de hidrazina e, além disso, oferta-se um excesso de NAD⁺ e de enzima para se garantir um rápido final à reação. A lactato-desidrogenase reage somente com o L-(+)-lactato, o que confere especificidade ao ensaio.

Solução tampão para o ensaio:

40ml de Tris 0,2 M

5ml de hidrato de hidrazina 100%

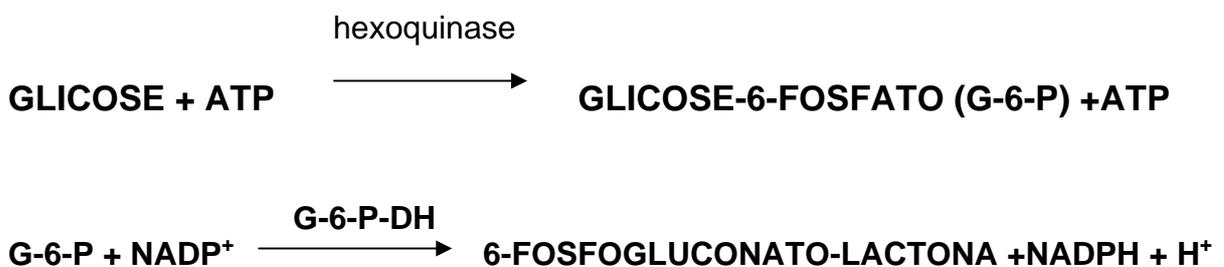
25mg de EDTA

Água destilada até completar 100ml

O pH da solução foi ajustado com ácido hidrolórico 5M para 9,5. Esta solução pode ser estocada a 4 graus centígrados por até 15 dias. No início do ensaio, 1ml de NAD⁺ 1% foi adicionado a cada 10ml de solução tampão. Em cada cubeta, o volume total foi de 2ml (0,2ml da amostra neutralizada + 0,8ml de água destilada + 1ml de solução tampão contendo NAD⁺ 1%). Todas as cubetas foram lidas a 340nm e 35 e 45 minutos após a adição de 0,02ml de lactato-desidrogenase.

Determinação do Trifosfato de adenosina (ATP) e da D-glicose-6-fosfato no sangue e nos tecidos

As concentrações de Trifosfato de adenosina (ATP) e de D-glicose-6-fosfato (G₆P) no sangue e nos tecidos (músculo, fígado e rim) foram determinadas utilizando-se uma combinação dos métodos descritos por Lamprecht e Traushould (1963) e Hohorst (*apud* VASCONCELOS, 1987), usando a mesma cubeta. A Hexoquinase catalisa a fosforilação da glicose com o ATP, na presença do Mg⁺⁺, produzindo a glicose-6-fosfato. A glicose-6-fosfato-desidrogenase (G₆PD) catalisa a oxidação da glicose-6-fosfato com o NADP. Cada mol de ATP forma 1 mol de NADPH.

Seqüência da reação:

Na presença de concentrações equivalentes de glicose e Mg^{++} , o ATP é convertido quantitativamente pela hexoquinase em ADP. O equilíbrio da reação tende para a direita, o que garante o término completo de ambas as reações, pois a glicose-6-fosfatase formada na primeira reação é rapidamente consumida na reação seguinte.

Solução tampão para o ensaio:

10ml Tris 0,1M pH 7.4

1 mg/ml NADP

2ml $MgCl_2$ 0,1M

0,5ml Glicose 0,1M

A solução foi renovada para cada ensaio. O volume total em cada cubeta foi de 2,0ml, consistindo de 0,5ml de extrato ácido ($HClO_4$) da amostra 0,5ml de água destilada e 1,0ml de solução tampão. A cubeta controle continha 1,0ml de água destilada e 1,0ml de solução tampão. Todas as cubetas foram lidas a 340nm antes e com 5 e 10 minutos após a adição de 0,005ml de glicose-6-fosfato-desidrogenase. Posteriormente, foram adicionados 0,005ml de Hexoquinase e efetuadas novas leituras passados 10 e 15 minutos.

3.7 Cálculo dos metabólitos

Todos os cálculos dos metabólitos se baseiam nas alterações de densidade óptica, medidas a 340nm nas amostras das cubetas após adição da enzima e subtraídas das mudanças inespecíficas que podem ocorrer nas cubetas de controle.

Então:

Diferença de densidade óptica (DDO) = alterações da absorbância da amostra na cubeta – alterações da absorbância na cubeta controle

Uma vez que o coeficiente molar de extinção de NADH é $6,22\text{cm}^2/\text{micromol}$, a quantidade de substrato na cubeta é igual a $\text{DDO}/6,22 \times \text{volume total da cubeta}$. Esse resultado é então multiplicado por um fator de diluição para cada amostra, o que resulta na concentração do substrato.

Micromol do metabólito/ml de sangue ou g de músculo = (peso de sangue ou músculo + HClO_4 /peso de sangue ou músculo) x (peso extrato neutro/peso extrato ácido) x (volume total da cubeta/volume extrato neutro na cubeta) x (DDO/6,22)

3.8 Análise estatística

Os resultados deste estudo experimental foram expressos como média \pm E.P.M. (Erro Padrão da Média), acompanhando-se pelo número de observações (n). A significância estatística foi calculada conforme os testes não paramétricos Mann-Whitney e Kruskal-Wallis/Dunn, através do programa "Minitab Statistical Software 13.2", Minitab INC., U.S.A. O nível de significância estabelecido foi de $p < 0,05$.

4 RESULTADOS

4.1 Modelo de isquemia

4.1.1 SANGUE

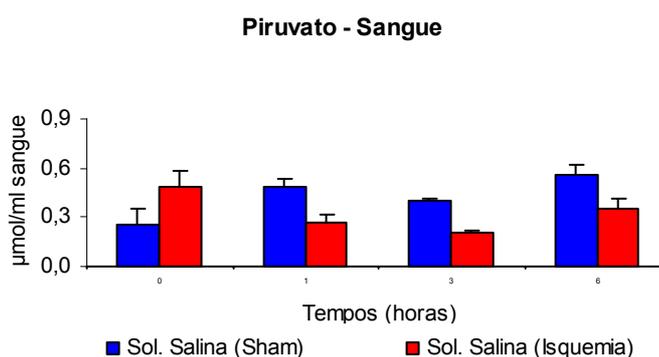
4.1.1.1 Comparação entre o Grupo G-1 (*Sham* Salina) e G-2 (Isquemia Salina) – SANGUE - Piruvato

Não foram detectadas diferenças significantes na concentração de piruvato sangüíneo, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), ambos tratados com solução salina. Também não ocorreram diferenças significantes entre os diversos tempos estudados em cada grupo.

TABELA 1 – Concentração de piruvato ($\mu\text{mol} / \text{ml}$) no sangue, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS)

TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina SEM Isquemia (G-1)	0,252 \pm 0,069	0,490 \pm 0,107	0,399 \pm 0,092	0,556 \pm 0,085
Solução salina COM Isquemia (G-2)	0,488 \pm 0,102	0,272 \pm 0,042	0,206 \pm 0,018	0,351 \pm 0,058

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

FIGURA 10 – Concentração de piruvato ($\mu\text{mol} / \text{ml}$) no sangue, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS)

4.1.1.2 Comparação entre o Grupo G-1 (*Sham* Salina) e G-2 (Isquemia Salina) – SANGUE - Lactato

Não foram detectadas diferenças significantes na lactacemia, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), ambos tratados com solução salina. Verificaram-se diferenças significantes entre T-6 e T-0/T-3, nos ratos do G-2.

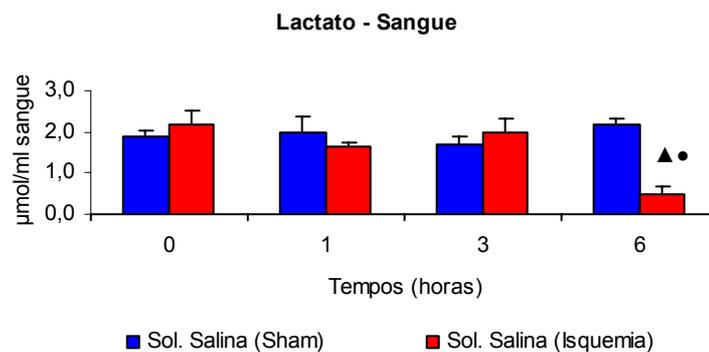
TABELA 2 – Concentração de lactato ($\mu\text{mol} / \text{ml}$) no sangue, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS)

TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina SEM Isquemia (G-1)	1,868 \pm 0,155	1,980 \pm 0,390	1,696 \pm 0,190	2,189 \pm 0,119
Solução salina COM Isquemia (G-2)	2,170 \pm 0,326	1,630 \pm 0,126	2,001 \pm 0,302	0,493 \pm 0,165 $\blacktriangle\bullet$

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

\blacktriangle $p < 0,05$ comparado ao T-0, no mesmo grupo

\bullet $p < 0,05$ comparado ao T-3, no mesmo grupo



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

\blacktriangle $p < 0,05$ comparado ao T-0, no mesmo grupo

\bullet $p < 0,05$ comparado ao T-3, no mesmo grupo

FIGURA 11 – Concentração de lactato ($\mu\text{mol} / \text{ml}$) no sangue, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS)

4.1.1.3 Comparação entre o Grupo G-1 (*Sham* Salina) e G-2 (Isquemia Salina) – SANGUE - Glicose

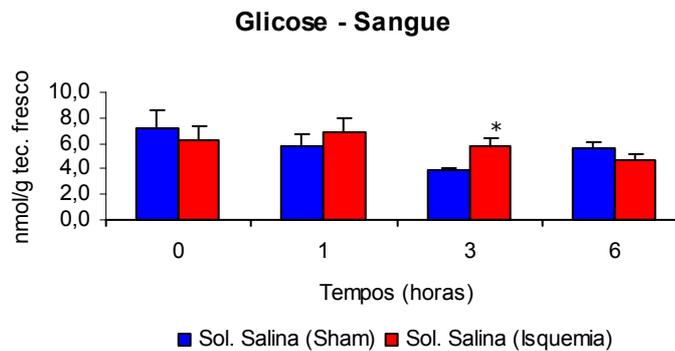
Observou-se aumento significativo da glicemia três horas após o início da reperfusão nos animais submetidos à isquemia muscular, comparados ao respectivo controle. Não ocorreram diferenças entre os diversos tempos estudados no mesmo grupo.

TABELA 3 – Concentração de glicose ($\mu\text{mol} / \text{ml}$) no sangue, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS)

TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina SEM Isquemia (G-1)	7,154 \pm 1,473	5,821 \pm 0,948	3,855 \pm 0,196	3,895 \pm 0,119
Solução salina COM Isquemia (G-2)	6,301 \pm 0,992	6,881 \pm 1,092	5,739 \pm 0,620*	4,631 \pm 0,458

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle ($p = 0,045$)



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

FIGURA 12 – Concentração de glicose ($\mu\text{mol} / \text{ml}$) no sangue, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS)

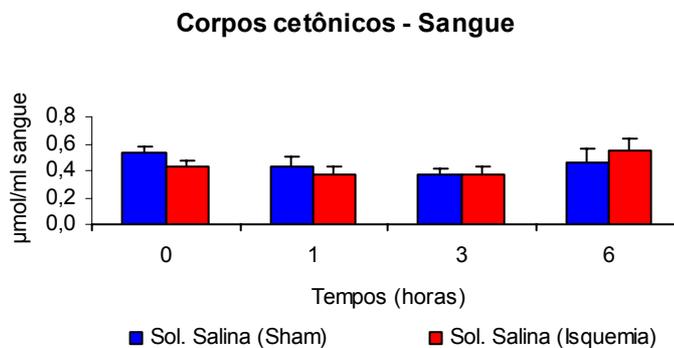
4.1.1.4 Comparação entre o Grupo G-1 (*Sham* Salina) e G-2 (Isquemia Salina) – SANGUE - Corpos cetônicos

Não foram observadas diferenças significantes na concentração de corpos cetônicos, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), ambos tratados com solução salina, nem entre os diversos tempos estudados no mesmo grupo.

TABELA 4 – Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol} / \text{ml}$) no sangue, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS)

TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina SEM Isquemia (G-1)	0,528 \pm 0,048	0,434 \pm 0,069	0,374 \pm 0,042	0,454 \pm 0,104
Solução salina COM Isquemia (G-2)	0,426 \pm 0,054	0,373 \pm 0,058	0,367 \pm 0,063	0,541 \pm 0,097

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

FIGURA 13 – Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol} / \text{ml}$) no sangue, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS)

4.1.2 RIM

4.1.2.1 Comparação entre os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-2 (Isquemia Salina) - RIM - Piruvato

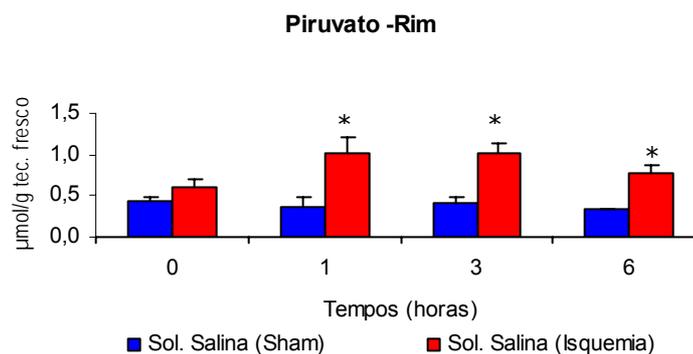
Ocorreram diferenças significantes na concentração de piruvato, no tecido renal dos ratos submetidos à isquemia, comparados ao respectivo controle, durante a reperfusão (1, 3 e 6 horas). Não ocorreram diferenças entre os diversos tempos estudados no mesmo grupo.

TABELA 5 – Concentração de piruvato ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS)

TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina SEM Isquemia (G-1)	0,425 \pm 0,053	0,372 \pm 0,112	0,421 \pm 0,072	0,330 \pm 0,019
Solução salina COM Isquemia (G-2)	0,605 \pm 0,093	1,013 \pm 0,191*	1,028 \pm 0,111*	0,768 \pm 0,095*

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

FIGURA 14 – Concentração de piruvato ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS)

4.1.2.2 Comparação entre os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-2 (Isquemia Salina) – RIM - Lactato

Ocorreram diferenças significantes na concentração de lactato no tecido renal dos ratos submetidos à isquemia, comparados ao respectivo controle, durante a reperfusão (T-3) e no tempo T-6, comparado ao T-3 nos ratos do grupo G-1 (*Sham*).

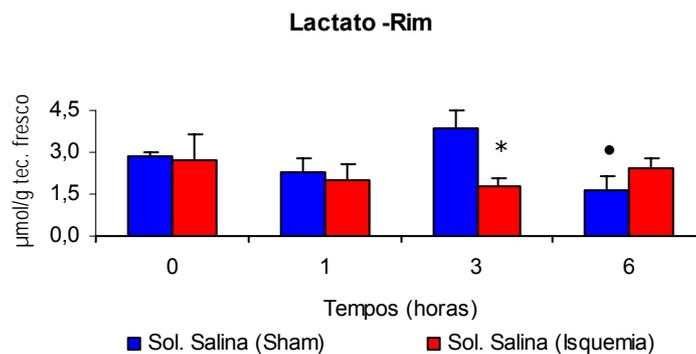
TABELA 6 – Concentração de lactato ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS)

TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina SEM Isquemia (G-1)	2,822 \pm 0,170	2,321 \pm 0,432	3,838 \pm 0,682	1,672 \pm 0,437●
Solução salina COM Isquemia (G-2)	2,727 \pm 0,941	2,026 \pm 0,545	1,811 \pm 0,264*	2,461 \pm 0,319

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

● $p < 0,05$ comparado ao T-3 no mesmo grupo



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

● $p < 0,05$ comparado ao T-3 no mesmo grupo

FIGURA 15 – Concentração de lactato ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS)

4.1.2.3 Comparação entre os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-2 (Isquemia Salina) – RIM - Glicose

Ocorreram diferenças significantes na concentração de glicose no tecido renal dos ratos submetidos à isquemia durante a reperusão (T-6), comparados ao respectivo controle e no tempo T-3, comparado ao T-1. Também ocorreram diferenças significantes entre T-6 e T-0/T-1 nos ratos do grupo G-1 (*Sham*).

TABELA 7 – Concentração de glicose ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS)

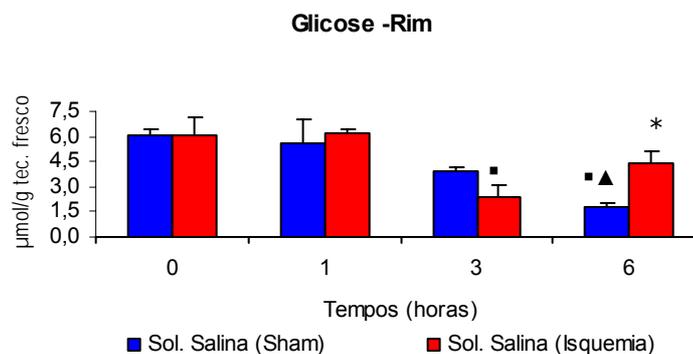
TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina SEM Isquemia (G-1)	6,074 \pm 0,412	5,639 \pm 1,382	3,905 \pm 0,299	1,824 \pm 0,218 ■▲
Solução salina COM Isquemia (G-2)	6,130 \pm 1,053	6,151 \pm 0,286	2,400 \pm 0,679 ■	4,433 \pm 0,737*

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

▲ $p < 0,05$ comparado ao T-0 no mesmo grupo

■ $p < 0,05$ comparado ao T-1 no mesmo grupo



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

▲ $p < 0,05$ comparado ao T-0 no mesmo grupo

■ $p < 0,05$ comparado ao T-1 no mesmo grupo

FIGURA 16 – Concentração de glicose ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS)

4.1.2.4 Comparação entre os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-2 (Isquemia Salina) – RIM - Corpos cetônicos

Ocorreram diferenças significantes na concentração de corpos cetônicos no tecido renal dos ratos submetidos à isquemia durante a reperfusão (T-3), comparados ao respectivo controle e no tempo T-3, comparado ao T-1/T-0. Também ocorreram diferenças significantes entre T-6 e T-0/T-3 nos ratos do grupo G-1 (*Sham*).

TABELA 8 – Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS)

TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina SEM Isquemia (G-1)	1,579 \pm 0,101	1,327 \pm 0,080	1,465 \pm 0,082	0,798 \pm 0,098 ▲●
Solução salina COM Isquemia (G-2)	1,432 \pm 0,170	1,644 \pm 0,294	0,423 \pm 0,055*▲■	1,010 \pm 0,070

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

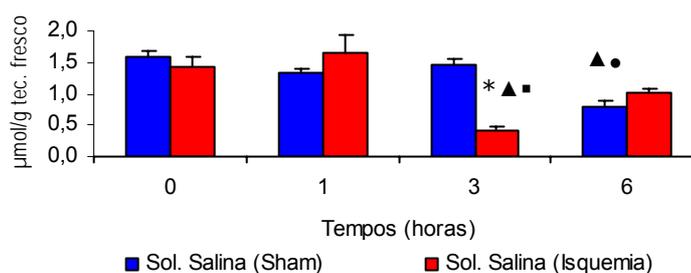
* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle (0,005)

▲ $p < 0,05$ comparado ao T-0 no mesmo grupo

■ $p < 0,05$ comparado ao T-1 no mesmo grupo

● $p < 0,05$ comparado ao T-3 no mesmo grupo

Corpos cetônicos -Rim



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

▲ $p < 0,05$ comparado ao T-0 no mesmo grupo

■ $p < 0,05$ comparado ao T-1 no mesmo grupo

● $p < 0,05$ comparado ao T-3 no mesmo grupo

FIGURA 17 – Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS)

4.1.2.5 Comparação entre os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-2 (Isquemia Salina) – RIM - ATP

Ocorreram diferenças significantes na concentração de ATP no tecido renal dos ratos submetidos à isquemia durante a reperfusão (T-3 e T-6), comparados aos respectivos controles e no tempo T-6, comparado ao T-3. Também ocorreram diferenças significantes entre T-6 e T-3 nos ratos do grupo G-1 (*Sham*).

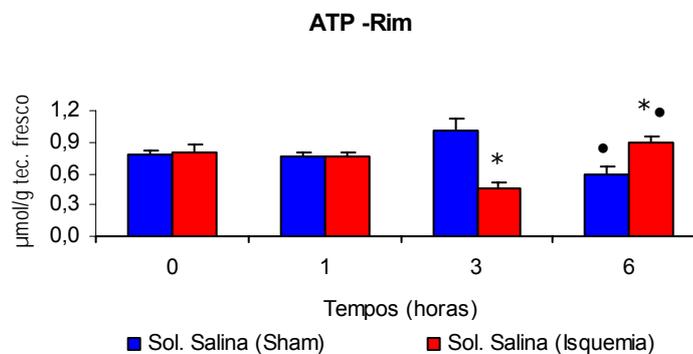
TABELA 9 – Concentração de ATP ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS)

TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina SEM Isquemia (G-1)	0,779 \pm 0,039	0,756 \pm 0,035	1,008 \pm 0,123	0,583 \pm 0,093 ●
Solução salina COM Isquemia (G-2)	0,795 \pm 0,090	0,755 \pm 0,090	0,453 \pm 0,054*	0,892 \pm 0,062*●

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle (0,005 – 0,030)

● $p < 0,05$ comparado ao T-3 no mesmo grupo



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

▲ $p < 0,05$ comparado ao T-0 no mesmo grupo

■ $p < 0,05$ comparado ao T-1 no mesmo grupo

● $p < 0,05$ comparado ao T-3 no mesmo grupo

FIGURA 18 – Concentração de ATP ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS)

4.1.3 FÍGADO

4.1.3.1 Comparação entre os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-2 (Isquemia Salina) – FÍGADO - Piruvato

Ocorreram diferenças significantes na concentração de piruvato no tecido hepático dos ratos submetidos à isquemia, comparados ao respectivo controle, durante a reperfusão (1 e 6 horas). Também ocorreram diferenças significantes entre T-6 e T-3/T-1 nos ratos do grupo G-1 (*Sham*).

TABELA 10 – Concentração de piruvato ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS)

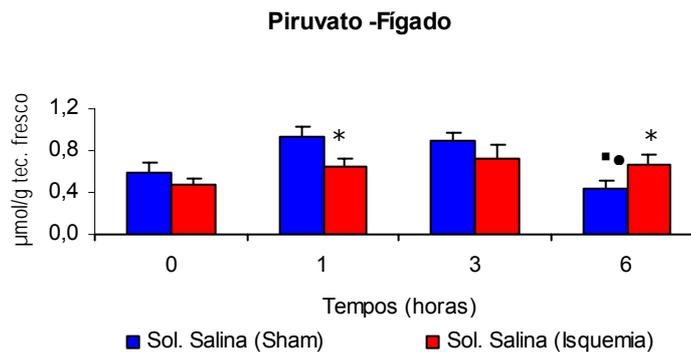
TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina SEM Isquemia (G-1)	0,586 \pm 0,102	0,939 \pm 0,098	0,899 \pm 0,076	0,446 \pm 0,063■●
Solução salina COM Isquemia (G-2)	0,473 \pm 0,067	0,641 \pm 0,090*	0,727 \pm 0,123	0,675 \pm 0,080*

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle (0,04 – 0,03)

■ $p < 0,05$ comparado ao T-1 no mesmo grupo

● $p < 0,05$ comparado ao T-3 no mesmo grupo



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

■ $p < 0,05$ comparado ao T-1 no mesmo grupo

● $p < 0,05$ comparado ao T-3 no mesmo grupo

FIGURA 19 – Concentração de piruvato ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS)

4.1.3.2 Comparação entre os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-2 (Isquemia Salina) – FÍGADO - Lactato

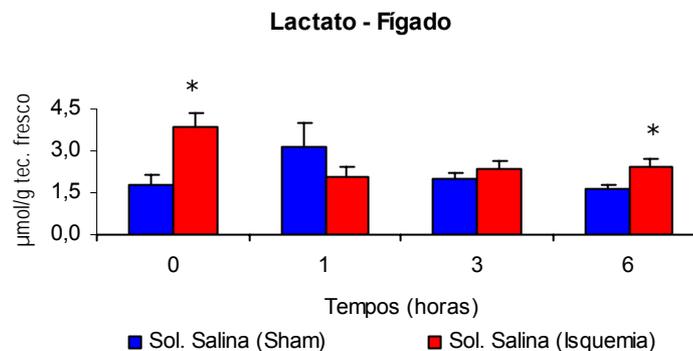
Ocorreram diferenças significantes na concentração de lactato no tecido hepático dos ratos submetidos à isquemia, comparados ao respectivo controle, ao término da isquemia e durante a reperfusão (T-6). Não ocorreram diferenças entre os diversos tempos estudados no mesmo grupo.

TABELA 11 – Concentração de lactato ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS)

TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina SEM Isquemia (G-1)	1,786 \pm 0,346	3,168 \pm 0,857	2,036 \pm 0,146	1,670 \pm 0,113
Solução salina COM Isquemia (G-2)	3,847 \pm 0,538*	2,065 \pm 0,363	2,349 \pm 0,321	2,463 \pm 0,259*

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

FIGURA 20 – Concentração de lactato ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS)

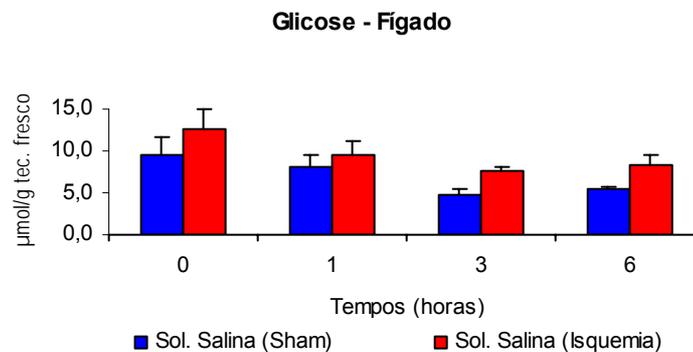
4.1.3.3 Comparação entre os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-2 (Isquemia Salina) – FÍGADO - Glicose

Não foram detectadas diferenças significantes na concentração da glicose hepática, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), ambos tratados com solução salina. Também não ocorreram diferenças entre os diversos tempos estudados em cada grupo.

TABELA 12 – Concentração de glicose ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS)

TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina SEM Isquemia (G-1)	9,598 \pm 2,002	8,005 \pm 1,497	4,705 \pm 0,885	5,362 \pm 0,443
Solução salina COM Isquemia (G-2)	12,583 \pm 2,380	9,508 \pm 1,651	7,511 \pm 0,656	8,257 \pm 1,152

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

FIGURA 21 – Concentração de glicose ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS)

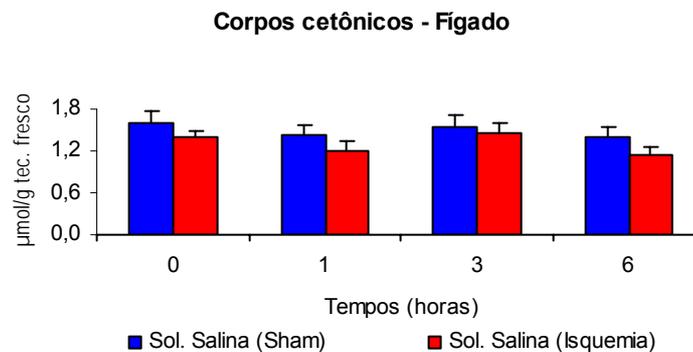
4.1.3.4 Comparação entre os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-2 (Isquemia Salina) – FÍGADO - Corpos cetônicos

Não foram detectadas diferenças significantes na concentração de corpos cetônicos no tecido hepático, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), ambos tratados com solução salina. Também não ocorreram diferenças entre os diversos tempos estudados em cada grupo.

TABELA 13 – Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol / g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS)

TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina SEM Isquemia (G-1)	1,594 \pm 0,167	1,415 \pm 0,149	1,540 \pm 0,185	1,387 \pm 0,146
Solução salina COM Isquemia (G-2)	1,410 \pm 0,079	1,204 \pm 0,131	1,457 \pm 0,135	1,152 \pm 0,938

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

FIGURA 22 – Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol / g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS)

4.1.3.5 Comparação entre os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-2 (Isquemia Salina) – FÍGADO - ATP

Ocorreram diferenças significantes na concentração de ATP no tecido hepático dos ratos submetidos à isquemia, comparados ao respectivo controle, durante a reperfusão (1, 3 e 6 horas) e tempo T-3, comparado ao T-0. Também ocorreram diferenças significantes entre T-6 e T-1 nos ratos do grupo G-1 (*Sham*).

TABELA 14 – Concentração de ATP ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS)

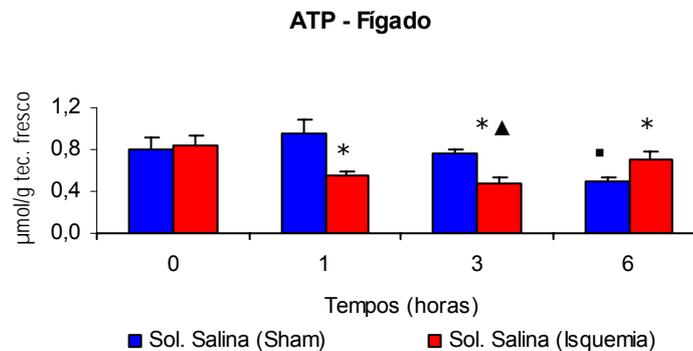
TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina SEM Isquemia (G-1)	0,792 \pm 0,132	0,961 \pm 0,133	0,757 \pm 0,047	0,496 \pm 0,045■
Solução salina COM Isquemia (G-2)	0,842 \pm 0,101	0,561 \pm 0,030*	0,470 \pm 0,064*▲	0,711 \pm 0,070*

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

▲ $p < 0,05$ comparado ao T-0 no mesmo grupo

■ $p < 0,05$ comparado ao T-1 no mesmo grupo



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

▲ $p < 0,05$ comparado ao T-0 no mesmo grupo

■ $p < 0,05$ comparado ao T-1 no mesmo grupo

FIGURA 23 – Concentração de ATP ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS)

4.1.4 MÚSCULO

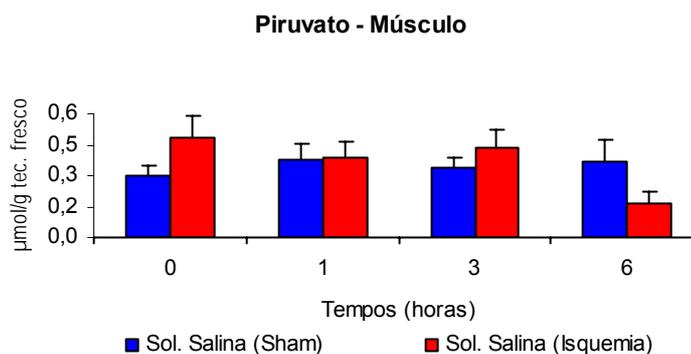
4.1.4.1 Comparação entre os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-2 (Isquemia Salina) – MÚSCULO - Piruvato

Não foram detectadas diferenças significantes na concentração de piruvato no músculo, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), ambos tratados com solução salina. Também não ocorreram diferenças entre os diversos tempos estudados em cada grupo.

TABELA 15 – Concentração de piruvato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS)

TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina SEM Isquemia (G-1)	0,298 \pm 0,054	0,374 \pm 0,077	0,339 \pm 0,052	0,368 \pm 0,102
Solução salina COM Isquemia (G-2)	0,486 \pm 0,104	0,385 \pm 0,078	0,435 \pm 0,090	0,169 \pm 0,055

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

FIGURA 24 – Concentração de piruvato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS)

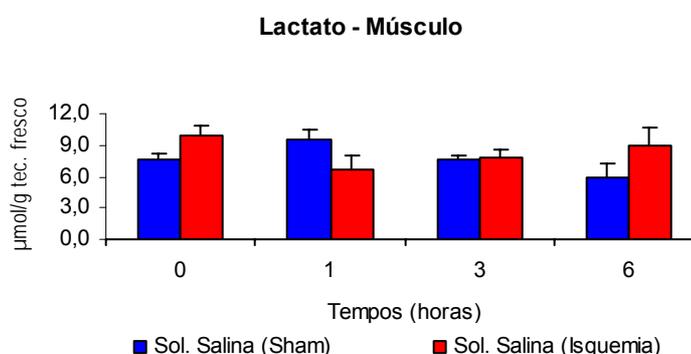
4.1.4.2 Comparação entre os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-2 (Isquemia Salina) – MÚSCULO - Lactato

Não foram detectadas diferenças significantes na concentração de lactato no músculo, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), ambos tratados com solução salina. Também não ocorreram diferenças entre os diversos tempos estudados em cada grupo.

TABELA 16 – Concentração de lactato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS)

TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina SEM Isquemia (G-1)	7,696 \pm 0,463	9,612 \pm 0,790	7,661 \pm 0,254	5,854 \pm 1,429
Solução salina COM Isquemia (G-2)	9,905 \pm 1,027	8,885 \pm 1,778	7,844 \pm 0,817	8,885 \pm 1,778

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

FIGURA 25 – Concentração de lactato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS)

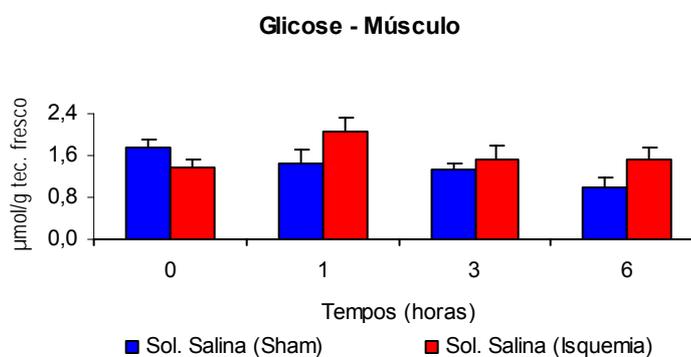
4.1.4.3 Comparação entre os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-2 (Isquemia Salina) – MÚSCULO - Glicose

Não foram detectadas diferenças significantes na concentração de glicose no músculo, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), ambos tratados com solução salina. Também não ocorreram diferenças significantes entre os diversos tempos estudados no mesmo grupo.

TABELA 17 – Concentração de glicose ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS)

TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina SEM Isquemia (G-1)	1,741 \pm 0,165	1,440 \pm 0,262	1,325 \pm 0,111	0,975 \pm 0,223
Solução salina COM Isquemia (G-2)	1,362 \pm 0,163	2,054 \pm 0,261	1,523 \pm 0,275	1,511 \pm 0,244

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney, em 6 ratos

FIGURA 26 – Concentração de glicose ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS)

4.1.4.4 Comparação entre os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-2 (Isquemia Salina) – MÚSCULO - Corpos cetônicos

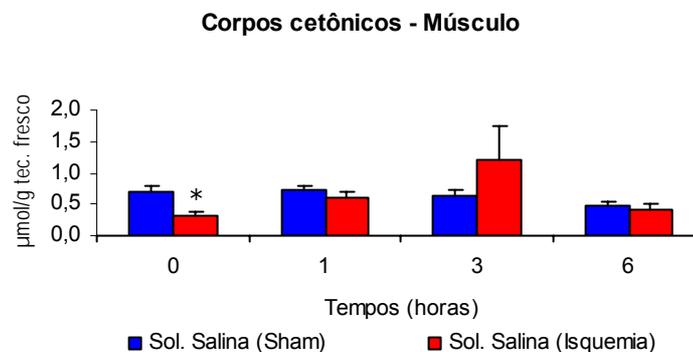
Foram detectadas diferenças significantes na concentração de corpos cetônicos no músculo, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), ambos tratados com solução salina, ao término do período de isquemia (T-0). Não ocorreram diferenças entre os diversos tempos estudados no mesmo grupo.

TABELA 18 – Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS)

TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina SEM Isquemia (G-1)	0,709 \pm 0,096	0,717 \pm 0,068	0,624 \pm 0,093	0,465 \pm 0,087
Solução salina COM Isquemia (G-2)	0,323 \pm 0,068 *	0,596 \pm 0,102	1,205 \pm 0,556	0,422 \pm 0,088

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

FIGURA 27 – Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS)

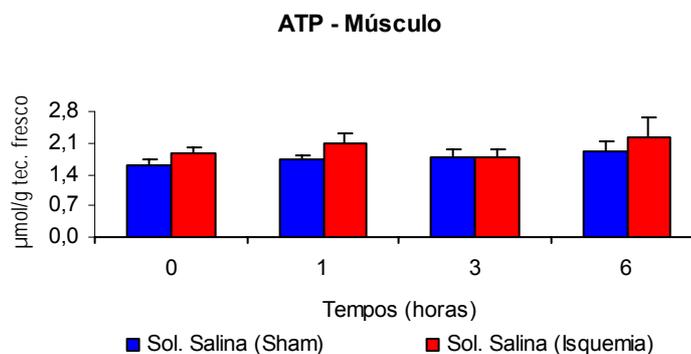
4.1.4.5 Comparação entre os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-2 (Isquemia Salina) – MÚSCULO - ATP

Não foram detectadas diferenças significantes na concentração de ATP no músculo, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), ambos tratados com solução salina. Também não ocorreram diferenças entre os diversos tempos estudados no mesmo grupo.

TABELA 19 – Concentração de ATP ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS)

TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina SEM Isquemia (G-1)	1,580 \pm 0,094	1,714 \pm 0,218	1,778 \pm 0,191	1,920 \pm 0,452
Solução salina COM Isquemia (G-2)	1,885 \pm 0,159	2,103 \pm 0,111	1,773 \pm 0,186	2,208 \pm 0,230

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

FIGURA 28 – Concentração de ATP ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), tratados com solução salina (SS)

4.2 Efeito L-Alanil-Glutamina no trauma

4.2.1 SANGUE

4.2.1.1 Comparação entre os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN) – SANGUE - Piruvato

Ocorreu diferença significativa na concentração de piruvato, no sangue dos ratos submetidos à cirurgia simulada e tratados com Ala-Gln, comparados ao respectivo controle, após a segunda cirurgia simulada (T-0) e após 6 horas (T-6). Observou-se, também, diferença significativa entre T-6 e T-0 no mesmo grupo (G-3).

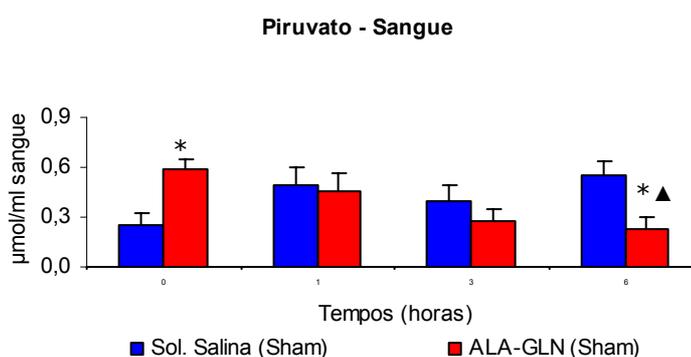
TABELA 20 – Concentração de piruvato ($\mu\text{mol /ml}$ sangue), comparando-se os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN)

TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina SEM Isquemia (G-1)	0,252 \pm 0,069	0,490 \pm 0,107	0,399 \pm 0,092	0,556 \pm 0,085
L-Alanil-Glutamina SEM Isquemia (G-3)	0,588 \pm 0,061*	0,454 \pm 0,107	0,280 \pm 0,072	0,229 \pm 0,073*▲

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

▲ $p < 0,05$ comparado ao T-0, no mesmo grupo



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

▲ $p < 0,05$ comparado ao T-0 no mesmo grupo

FIGURA 29 – Concentração de piruvato ($\mu\text{mol /ml}$ sangue), comparando-se os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN)

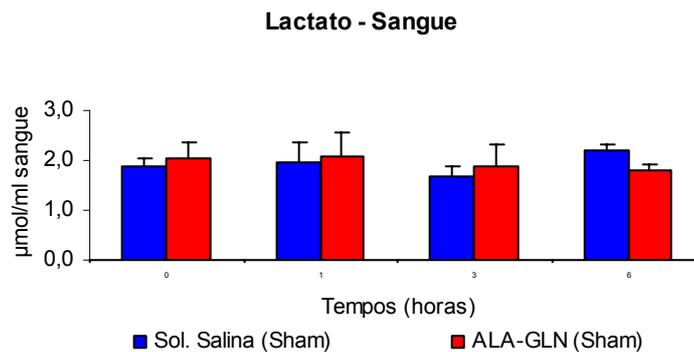
4.2.1.2 Comparação entre os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN) – SANGUE - Lactato

Não foram detectadas diferenças significantes na lactacemia, comparando-se os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* Ala-Gln), submetidos ao procedimento *sham*. Também não ocorreram diferenças entre os diversos tempos estudados no mesmo grupo.

TABELA 21 – Concentração de lactato (μmol /ml sangue), comparando-se os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN)

TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina SEM Isquemia (G-1)	1,868 \pm 0,155	1,980 \pm 0,390	1,696 \pm 0,190	2,189 \pm 0,119
L-Alanil-Glutamina SEM Isquemia (G-3)	2,029 \pm 0,317	2,086 \pm 0,466	1,891 \pm 0,442	1,805 \pm 0,133

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

FIGURA 30 – Concentração de lactato (μmol /ml sangue), comparando-se os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN)

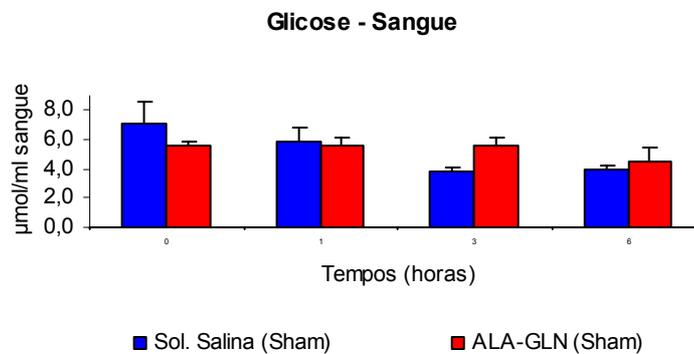
4.2.1.3 Comparação entre os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN) – SANGUE - Glicose

Não foram detectadas diferenças significantes na glicemia, comparando-se os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* Ala-Gln), submetidos ao procedimento *sham*. Também não ocorreram diferenças entre os diversos tempos estudados no mesmo grupo

TABELA 22 – Concentração de glicose ($\mu\text{mol /ml}$ sangue), comparando-se os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN)

TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina SEM Isquemia (G-1)	7,154 \pm 1,473	5,821 \pm 0,948	3,855 \pm 0,196	3,895 \pm 0,119
L-Alanil-Glutamina SEM Isquemia (G-3)	5,541 \pm 1,676	5,536 \pm 0,534	5,536 \pm 0,534	4,562 \pm 0,851

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

FIGURA 31– Concentração de glicose ($\mu\text{mol /ml}$ sangue), comparando-se os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN)

4.2.1.4 Comparação entre os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN) – SANGUE - Corpos cetônicos

Ocorreram diferenças significantes na concentração de corpos cetônicos, no sangue dos ratos submetidos à cirurgia simulada e tratados com Ala-Gln, comparados ao respectivo controle, ao término do período de isquemia (T-0) e durante a reperfusão (T-3 e T-6). Observou-se, também, diferença significativa entre T-6/T-3 e T-0 no mesmo grupo (G-3).

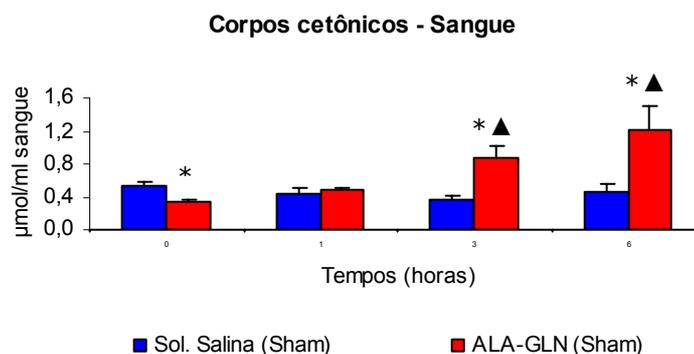
TABELA 23 – Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol} / \text{ml}$ sangue), comparando-se os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN)

TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina SEM Isquemia (G-1)	0,528 \pm 0,048	0,434 \pm 0,069	0,374 \pm 0,042	0,454 \pm 0,104
L-Alanil-Glutamina SEM Isquemia (G-3)	0,333 \pm 0,026*	0,476 \pm 0,043	0,883 \pm 0,131* \blacktriangle	1,204 \pm 0,292* \blacktriangle

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

\blacktriangle $p < 0,05$ comparado ao T-0 no mesmo grupo



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

\blacktriangle $p < 0,05$ comparado ao T-0 no mesmo grupo

FIGURA 32 – Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol} / \text{ml}$ sangue), comparando-se os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN)

4.2.2 RIM

4.2.2.1 Comparação entre os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN) – RIM - Piruvato

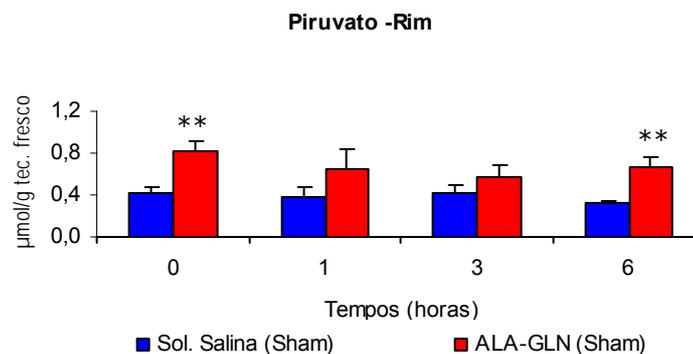
Ocorreram diferenças significantes na concentração de piruvato no tecido renal dos ratos submetidos à cirurgia simulada e tratados com Ala-Gln, comparados ao respectivo controle, ao término do período de isquemia (T-0) e durante a reperfusão (T-6). Não foram observadas diferenças significantes entre os tempos estudados no mesmo grupo.

TABELA 24 – Concentração de piruvato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN)

TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina SEM Isquemia (G-1)	0,425 \pm 0,053	0,372 \pm 0,112	0,421 \pm 0,072	0,330 \pm 0,019
L-Alanil-Glutamina SEM Isquemia (G-3)	0,813 \pm 0,086**	0,656 \pm 0,045	0,656 \pm 0,108	0,663 \pm 0,086**

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

** $p < 0,01$ comparado ao respectivo controle



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

** $p < 0,01$ comparado ao respectivo controle

FIGURA 33 – Concentração de piruvato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN)

4.2.2.2 Comparação entre os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN) – RIM - Lactato

Ocorreram diferenças significantes na concentração de lactato no tecido renal dos ratos submetidos à cirurgia simulada e tratados com Ala-Gln, comparados ao respectivo controle, ao término do período de isquemia (T-0) e durante a reperfusão (T-3). Foram observadas diferenças significantes entre T-1 e T-0 no grupo G-3.

TABELA 25 – Concentração de lactato ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN)

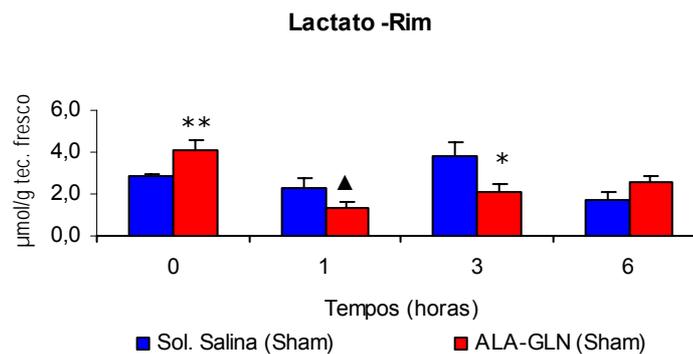
TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina SEM Isquemia (G-1)	2,822 \pm 0,170	2,321 \pm 0,432	3,838 \pm 0,682	1,672 \pm 0,437
L-Alanil-Glutamina SEM Isquemia (G-3)	4,109 \pm 0,495 **	1,312 \pm 0,277 \blacktriangle	2,118 \pm 0,374 *	2,583 \pm 0,297

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

** $p < 0,01$ comparado ao respectivo controle

\blacktriangle $p < 0,05$ comparado ao T-0 no mesmo grupo



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

\blacktriangle $p < 0,05$ comparado ao T-0 no mesmo grupo

** $p < 0,01$ comparado ao respectivo controle

FIGURA 34 – Concentração de lactato ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN)

4.2.2.3 Comparação entre os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN) – RIM - Glicose

Ocorreram diferenças significantes na concentração de glicose no tecido renal dos ratos submetidos à cirurgia simulada e tratados com Ala-Gln, comparados ao respectivo controle durante a reperfusão (T-6). Foram observadas diferenças significantes entre T-6 e T-0/T-1 no grupo G-1.

TABELA 26 – Concentração de glicose ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN)

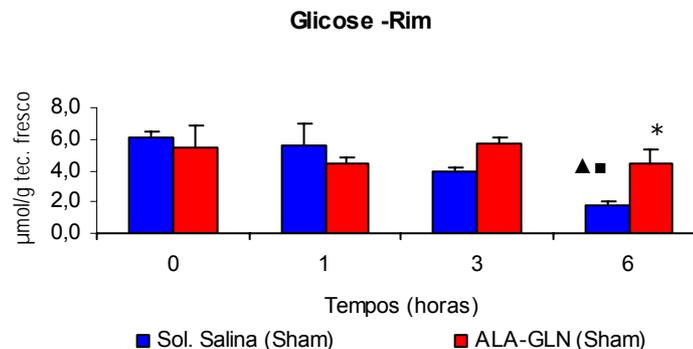
TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina SEM Isquemia (G-1)	6,074 \pm 0,412	5,639 \pm 1,382	3,905 \pm 0,299	1,824 \pm 0,218 \blacktriangle \blacksquare
L-Alanil-Glutamina SEM Isquemia (G-3)	5,462 \pm 1,373	4,440 \pm 0,336	5,690 \pm 0,399	4,396 \pm 0,955 *

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

\blacktriangle $p < 0,01$ comparado ao T-0 no mesmo grupo

\blacksquare $p < 0,05$ comparado ao T-1 no mesmo grupo



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

\blacktriangle $p < 0,01$ comparado ao T-0 no mesmo grupo

\blacksquare $p < 0,05$ comparado ao T-1 no mesmo grupo

FIGURA 35 – Concentração de glicose ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN)

4.2.2.4 Comparação entre os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN) – RIM - Corpos cetônicos

Ocorreram diferenças significantes na concentração de corpos cetônicos no tecido renal dos ratos submetidos à cirurgia simulada e tratados com Ala-Gln, comparados ao respectivo controle durante a reperusão (T-6). Foram observadas diferenças significantes entre T-6 e T-0/T-3 no grupo G-1.

TABELA 27 – Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN)

TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina SEM Isquemia (G-1)	1,579 \pm 0,101	1,327 \pm 0,080	1,465 \pm 0,082	0,798 \pm 0,098 \blacktriangle \bullet
L-Alanil-Glutamina SEM Isquemia (G-3)	1,379 \pm 0,099	1,227 \pm 0,059	1,415 \pm 0,141	1,289 \pm 0,149 *

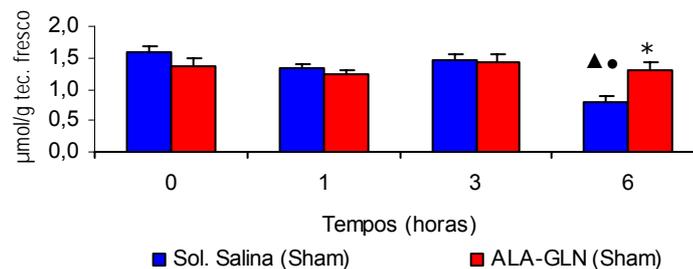
Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

\blacktriangle $p < 0,05$ comparado ao T-0 no mesmo grupo

\bullet $p < 0,05$ comparado ao T-3 no mesmo grupo

Corpos cetônicos -Rim



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

\blacktriangle $p < 0,05$ comparado ao T-0 no mesmo grupo

\bullet $p < 0,05$ comparado ao T-3 no mesmo grupo

FIGURA 36 – Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN)

4.2.2.5 Comparação entre os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN) – RIM - ATP

Ocorreram diferenças significantes na concentração de ATP no tecido renal dos ratos submetidos à cirurgia simulada e tratados com Ala-Gln, comparados ao respectivo controle, ao término da isquemia (T-0) e durante a reperfusão (T-1 e T-6). Foram observadas diferenças significantes entre T-6 e T-1, em relação ao T-0 no grupo G-3 e T-0/T-3 no grupo G-1.

TABELA 28 – Concentração de ATP (μmol /g tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN)

TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina SEM Isquemia (G-1)	0,779 \pm 0,039	0,756 \pm 0,035	1,008 \pm 0,123	0,583 \pm 0,093 ●
L-Alanil-Glutamina SEM Isquemia (G-3)	0,471 \pm 0,069 **	0,433 \pm 0,053 **	0,706 \pm 0,077	1,151 \pm 0,325*▲■

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

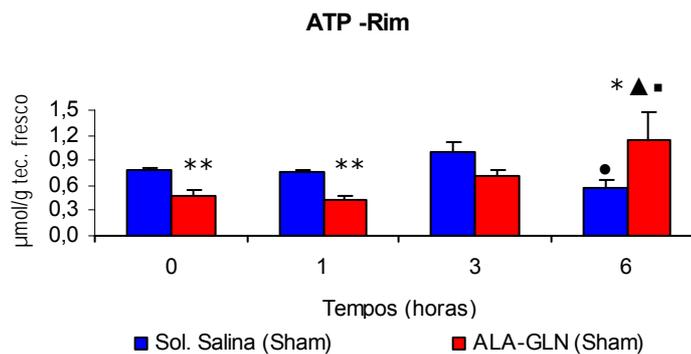
* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

** $p < 0,01$ comparado ao respectivo controle

▲ $p < 0,05$ comparado ao T-0 no mesmo grupo

■ $p < 0,05$ comparado ao T-1 no mesmo grupo

● $p < 0,05$ comparado ao T-3 no mesmo grupo



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

▲ $p < 0,05$ comparado ao T-0 no mesmo grupo

** $p < 0,01$ comparado ao respectivo controle

■ $p < 0,05$ comparado ao T-1 no mesmo grupo

● $p < 0,05$ comparado ao T-3 no mesmo grupo

FIGURA 37 – Concentração de ATP (μmol /g tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN)

4.2.3 FÍGADO

4.2.3.1 Comparação entre os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN) – FÍGADO - Piruvato

Ocorreram diferenças significantes na concentração de piruvato no tecido hepático dos ratos submetidos à cirurgia simulada e tratados com Ala-Gln, comparados ao respectivo controle durante a reperusão (T-1). Foram observadas diferenças significantes entre T-6 e T-3/T-1 no grupo G-1.

TABELA 29 – Concentração de piruvato ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN)

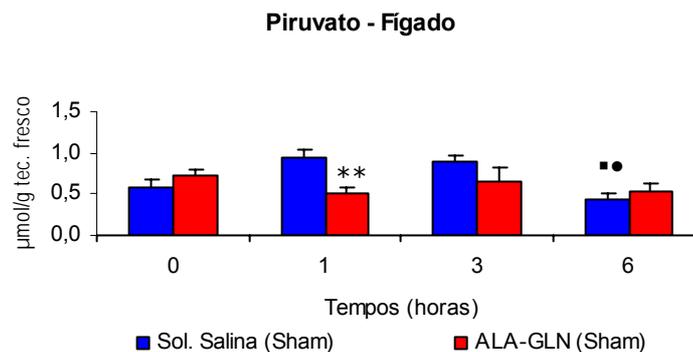
TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina SEM Isquemia (G-1)	0,586 \pm 0,102	0,938 \pm 0,098	0,898 \pm 0,762	0,446 \pm 0,063■●
L-Alanil-Glutamina SEM Isquemia (G-3)	0,729 \pm 0,074	0,511 \pm 0,069**	0,647 \pm 0,166	0,534 \pm 0,097

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

** $p < 0,01$ comparado ao respectivo controle

■ $p < 0,05$ comparado ao T-1 no mesmo grupo

● $p < 0,05$ comparado ao T-3 no mesmo grupo



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

** $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

■ $p < 0,05$ comparado ao T-1 no mesmo grupo

● $p < 0,05$ comparado ao T-3 no mesmo grupo

FIGURA 38 – Concentração de piruvato ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN)

4.2.3.2 Comparação entre os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN) – FÍGADO - Lactato

Ocorreram diferenças significantes na concentração de lactato no tecido hepático dos ratos submetidos à cirurgia simulada e tratados com Ala-Gln, comparados ao respectivo controle, ao término da isquemia (T-0) e durante a reperfusão (T-6). Foram observadas diferenças significantes entre T-1 e T-0 no grupo G-3.

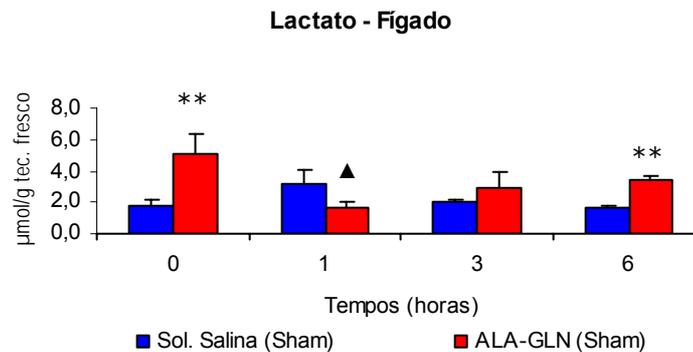
TABELA 30 – Concentração de lactato (μmol /g tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN)

TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina SEM Isquemia (G-1)	1,786 \pm 0,346	3,168 \pm 0,857	2,036 \pm 0,146	1,670 \pm 0,113
L-Alanil-Glutamina SEM Isquemia (G-3)	5,122 \pm 1,182**	1,706 \pm 0,301▲	2,944 \pm 1,029	3,380 \pm 0,320**

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

** $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

▲ $p < 0,05$ comparado ao T-0 no mesmo grupo



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

** $p < 0,01$ comparado ao respectivo controle

▲ $p < 0,05$ comparado ao T-0 no mesmo grupo

FIGURA 39 – Concentração de lactato (μmol /g tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN)

4.2.3.3 Comparação entre os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN) – FÍGADO - Glicose

Ocorreram diferenças significantes na concentração de glicose no tecido hepático dos ratos submetidos à cirurgia simulada e tratados com Ala-Gln, comparados ao respectivo controle, ao término da isquemia (T-0) e durante a reperfusão (T-6). Foram observadas diferenças significantes entre T-3 e T-0 no grupo G-3.

TABELA 31 – Concentração de glicose ($\mu\text{mol /g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN)

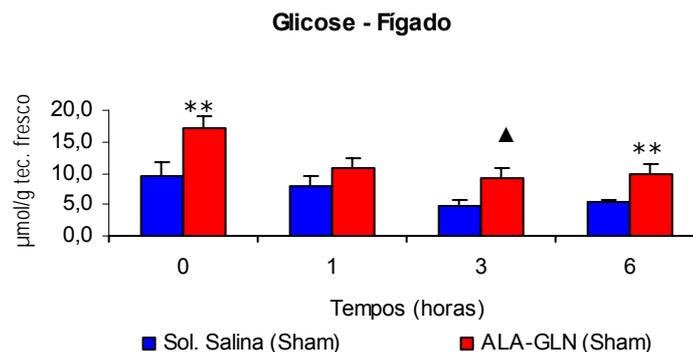
TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina SEM Isquemia (G-1)	9,598 \pm 2,002	8,005 \pm 1,497	4,705 \pm 0,885	5,362 \pm 0,444
L-Alanil-Glutamina SEM Isquemia (G-3)	17,250 \pm 1,676*	10,820 \pm 1,426	9,164 \pm 1,751 \blacktriangle	9,895 \pm 1,485**

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

** $p < 0,01$ comparado ao respectivo controle

\blacktriangle $p < 0,05$ comparado ao T-0 no mesmo grupo



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

** $p < 0,01$ comparado ao respectivo controle

\blacktriangle $p < 0,05$ comparado ao T-0 no mesmo grupo

FIGURA 40 – Concentração de glicose ($\mu\text{mol /g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN)

4.2.3.4 Comparação entre os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN) – FÍGADO - Corpos cetônicos

Ocorreram diferenças significantes na concentração de corpos cetônicos no tecido hepático dos ratos submetidos à cirurgia simulada e tratados com Ala-Gln, comparados ao respectivo controle, ao término da isquemia (T-0) e durante a reperfusão (T-6). Foram observadas diferenças significantes entre T-3 e T-0 no grupo G-3.

TABELA 32 – Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN)

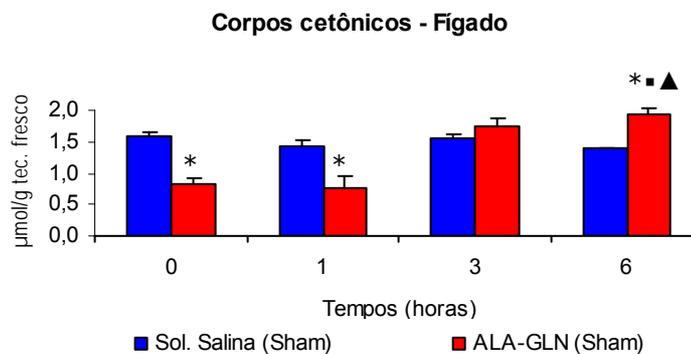
TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina SEM Isquemia (G-1)	1,594 \pm 0,167	1,415 \pm 0,149	1,540 \pm 0,186	1,387 \pm 0,146
L-Alanil-Glutamina SEM Isquemia (G-3)	0,834 \pm 0,122*	0,776 \pm 0,049*	1,757 \pm 0,331	1,945 \pm 0,092*■▲

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

▲ $p < 0,05$ comparado ao T-0 no mesmo grupo

■ $p < 0,05$ comparado ao T-1 no mesmo grupo



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

▲ $p < 0,05$ comparado ao T-0 no mesmo grupo

■ $p < 0,05$ comparado ao T-1 no mesmo grupo

FIGURA 41 – Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN)

4.2.3.5 Comparação entre os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN) – FÍGADO - ATP

Ocorreram diferenças significantes na concentração de ATP no tecido hepático dos ratos submetidos à cirurgia simulada e tratados com Ala-Gln, comparados ao respectivo controle durante a reperfusão (T-1 e T-3). Foram observadas diferenças significantes entre T-6 e T-1 nos grupo G-3 e G-1.

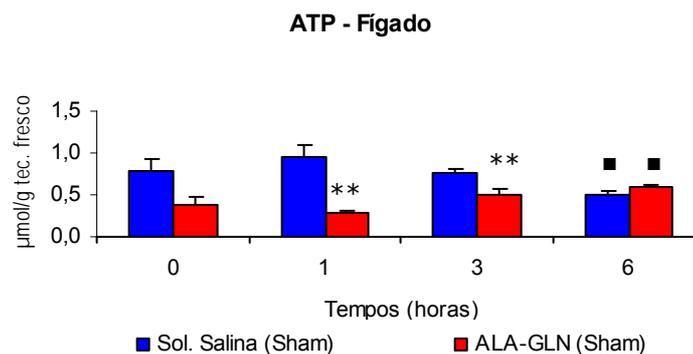
TABELA 33 – Concentração de ATP ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN)

TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina SEM Isquemia (G-1)	0,792 \pm 0,132	0,961 \pm 0,133	0,757 \pm 0,047	0,496 \pm 0,045■
L-Alanil-Glutamina SEM Isquemia (G-3)	0,375 \pm 0,105	0,290 \pm 0,030**	0,498 \pm 0,064**	0,595 \pm 0,021■

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

** $p < 0,01$ comparado ao respectivo controle

■ $p < 0,05$ comparado ao T-1 no mesmo grupo



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

** $p < 0,01$ comparado ao respectivo controle

■ $p < 0,05$ comparado ao T-1 no mesmo grupo

FIGURA 42 – Concentração de ATP ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN)

4.2.4 MÚSCULO

4.2.4.1 Comparação entre os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN) – MÚSCULO - Piruvato

Ocorreram diferenças significantes na concentração de piruvato no músculo dos ratos submetidos à cirurgia simulada e tratados com Ala-Gln, comparados ao respectivo controle, ao término da isquemia (T-0) e durante a reperfusão (T-1). Foram observadas diferenças significantes entre T-6 e T-3 comparados a T-0 e T-6 comparado a T-1 no grupo G-3.

TABELA 34 – Concentração de piruvato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN)

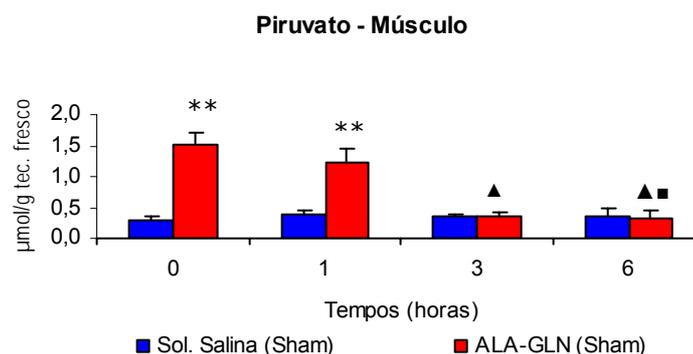
TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina SEM Isquemia (G-1)	0,298 \pm 0,054	0,374 \pm 0,077	0,339 \pm 0,052	0,368 \pm 0,102
L-Alanil-Glutamina SEM Isquemia (G-3)	1,507 \pm 0,191**	1,217 \pm 0,224**	0,353 \pm 0,056 ▲	0,332 \pm 0,132▲■

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

** $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

▲ $p < 0,05$ comparado ao T-0 no mesmo grupo

■ $p < 0,05$ comparado ao T-1 no mesmo grupo



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

** $p < 0,01$ comparado ao respectivo controle

▲ $p < 0,05$ comparado ao T-0 no mesmo grupo

■ $p < 0,05$ comparado ao T-1 no mesmo grupo

FIGURA 43 – Concentração de piruvato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN)

4.2.4.2 Comparação entre os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN) – MÚSCULO - Lactato

Ocorreram diferenças significantes na concentração de lactato no músculo dos ratos submetidos à cirurgia simulada e tratados com Ala-Gln, comparados ao respectivo controle durante a reperfusão (T-1). Foram observadas diferenças significantes entre T-6 e T-0 no grupo G-3.

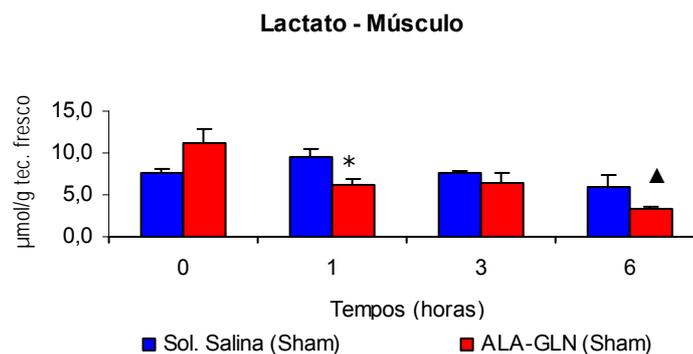
TABELA 35 – Concentração de lactato ($\mu\text{mol /g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN)

TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina SEM Isquemia (G-1)	7,696 \pm 0,463	9,612 \pm 0,790	7,661 \pm 0,254	5,854 \pm 1,429
L-Alanil-Glutamina SEM Isquemia (G-3)	11,130 \pm 1,819	6,081 \pm 0,748 *	6,478 \pm 1,033	3,313 \pm 0,372 \blacktriangle

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

\blacktriangle $p < 0,05$ comparado ao T-0 no mesmo grupo



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

\blacktriangle $p < 0,05$ comparado ao T-0 no mesmo grupo

FIGURA 44 – Concentração de lactato ($\mu\text{mol /g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN)

4.2.4.3 Comparação entre os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN) – MÚSCULO - Glicose

Ocorreram diferenças significantes na concentração de glicose no músculo dos ratos submetidos à cirurgia simulada e tratados com Ala-Gln, comparados ao respectivo controle, ao término da isquemia (T-0) e durante a reperfusão (T-3). Foram observadas diferenças significantes entre T-6 e T-0 no grupo G-3.

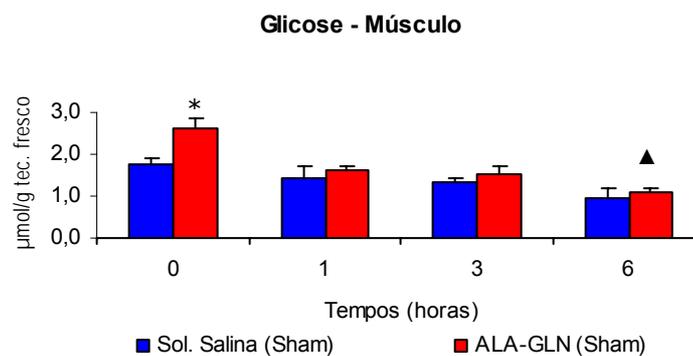
TABELA 36 – Concentração de glicose ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN)

TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina SEM Isquemia (G-1)	1,741 \pm 0,165	1,440 \pm 0,262	1,325 \pm 0,111	0,975 \pm 0,223
L-Alanil-Glutamina SEM Isquemia (G-3)	2,604 \pm 0,238*	1,598 \pm 0,140	1,535 \pm 0,188	1,082 \pm 0,092▲

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

▲ $p < 0,001$ comparado ao T-0 no mesmo grupo



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

▲ $p < 0,001$ comparado ao T-0 no mesmo grupo

FIGURA 45 – Concentração de glicose ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN)

4.2.4.4 Comparação entre os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN) – MÚSCULO - Corpos cetônicos

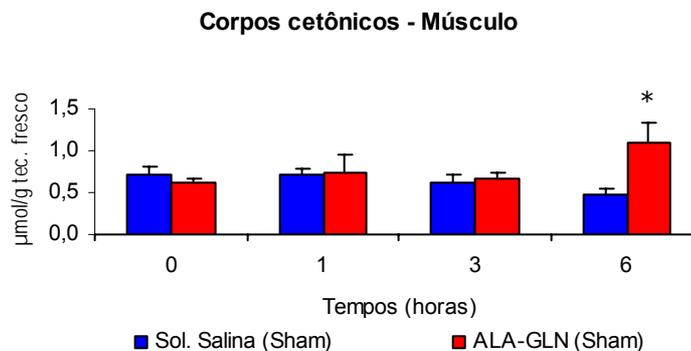
Ocorreram diferenças significantes na concentração de corpos cetônicos no músculo dos ratos submetidos à cirurgia simulada e tratados com Ala-Gln, comparados ao respectivo controle durante a reperfusão (T-6). Não ocorreram diferenças significantes entre os diversos tempos estudados no mesmo grupo.

TABELA 37 – Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN)

TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina SEM Isquemia (G-1)	0,709 \pm 0,096	0,717 \pm 0,068	0,624 \pm 0,093	0,465 \pm 0,087
L-Alanil-Glutamina SEM Isquemia (G-3)	0,620 \pm 0,051	0,747 \pm 0,199	0,676 \pm 0,061	1,107 \pm 0,220 *

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

FIGURA 46 – Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN)

4.2.4.5 Comparação entre os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN) – MÚSCULO - ATP

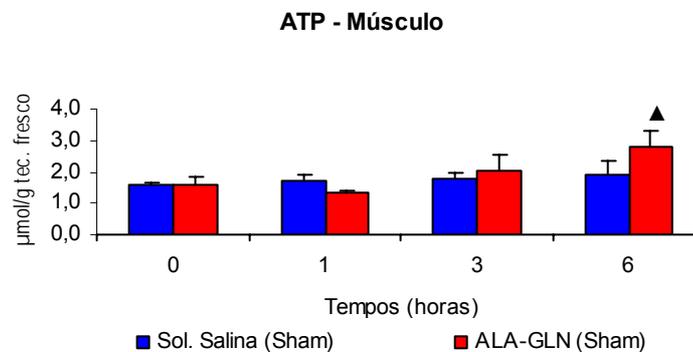
Não ocorreram diferenças significantes na concentração de ATP no músculo dos ratos submetidos à cirurgia simulada e tratados com Ala-Gln, comparados ao respectivo controle. Foram observadas diferenças significantes entre T-6 e T-0 no grupo G-3.

TABELA 38 – Concentração de ATP (μmol /g tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN)

TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina SEM Isquemia (G-1)	1,580 \pm 0,094	1,714 \pm 0,218	1,778 \pm 0,191	1,920 \pm 0,452
L-Alanil-Glutamina SEM Isquemia (G-3)	1,600 \pm 0,231	1,334 \pm 0,079	2,033 \pm 0,536	2,781 \pm 0,504 \blacktriangle

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

\blacktriangle p<0,05 comparado ao T-0 no mesmo grupo



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

\blacktriangle p<0,05 comparado ao T-0 no mesmo grupo

FIGURA 47 – Concentração de ATP (μmol /g tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-1 (*Sham* Salina) e G-3 (*Sham* ALA-GLN)

4.3 Efeito L-Alanil-Glutamina sobre a lesão de Isquemia/Reperusão

4.3.1 SANGUE

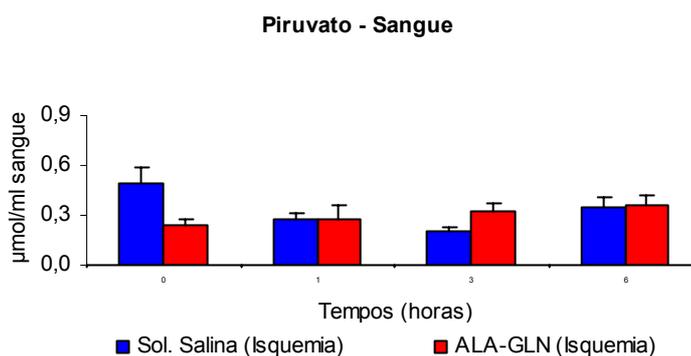
4.3.1.1 Comparação entre os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN) – SANGUE - Piruvato

Não ocorreram diferenças significantes na concentração de piruvato no sangue dos ratos submetidos à isquemia e tratados com Ala-Gln (G-4), comparados ao respectivo controle (G-2). Também não ocorreram diferenças significantes entre os diversos tempos estudados no mesmo grupo.

TABELA 39 – Concentração de piruvato ($\mu\text{mol} / \text{ml}$ sangue), comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia Ala-Gln)

TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina COM Isquemia (G-2)	0,488 \pm 0,102	0,272 \pm 0,042	0,206 \pm 0,018	0,351 \pm 0,058
L-Alanil-Glutamina COM Isquemia (G-4)	0,242 \pm 0,035	0,281 \pm 0,074	0,328 \pm 0,046	0,364 \pm 0,057

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

FIGURA 48 – Concentração de piruvato ($\mu\text{mol} / \text{ml}$ sangue), comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia Ala-Gln)

4.3.1.2 Comparação entre os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN) – SANGUE - Lactato

Ocorreram diferenças significantes na concentração de lactato no sangue dos ratos submetidos à isquemia e tratados com Ala-Gln (G-4), comparados ao respectivo controle (G-2) durante a reperfusão (T-1 e T-6). Não ocorreram diferenças significantes entre os diversos tempos estudados no grupo G-4. Verificaram-se diferenças significantes entre T-6 e T-0/T-T3 nos ratos do G-2.

TABELA 40 – Concentração de lactato ($\mu\text{mol} / \text{ml}$ sangue), comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia Ala-Gln)

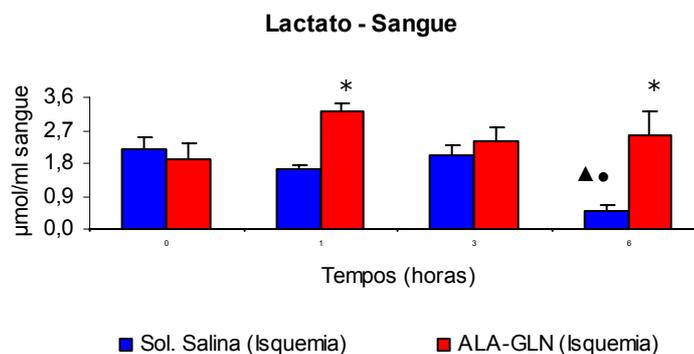
TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina COM Isquemia (G-2)	2,170 \pm 0,326	1,630 \pm 0,126	2,001 \pm 0,302	0,493 \pm 0,165▲●
L-Alanil-Glutamina COM Isquemia (G-4)	1,920 \pm 0,404	3,207 \pm 0,254*	2,388 \pm 0,402	2,572 \pm 0,657*

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

▲ $p < 0,05$ comparado ao T-0 no mesmo grupo

● $p < 0,05$ comparado ao T-3 no mesmo grupo



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

▲ $p < 0,05$ comparado ao T-0 no mesmo grupo

● $p < 0,05$ comparado ao T-3 no mesmo grupo

FIGURA 49 – Concentração de lactato ($\mu\text{mol} / \text{ml}$ sangue), comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia Ala-Gln)

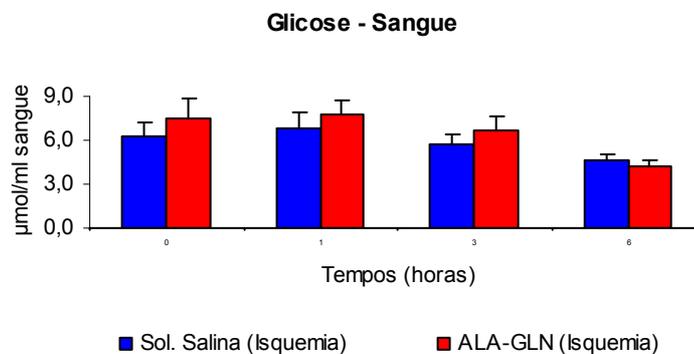
4.3.1.3 Comparação entre os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN) – SANGUE - Glicose

Não ocorreram diferenças significantes na concentração de glicose no sangue dos ratos submetidos à isquemia e tratados com Ala-Gln (G-4), comparados ao respectivo controle (G-2). Não ocorreram diferenças significantes entre os diversos tempos estudados no mesmo grupo.

TABELA 41 – Concentração de glicose (μmol /ml sangue), comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia Ala-Gln)

TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina COM Isquemia (G-2)	6,301 \pm 0,992	6,881 \pm 1,092	5,739 \pm 0,620	4,631 \pm 0,458
L-Alanil-Glutamina COM Isquemia (G-4)	7,520 \pm 1,337	7,756 \pm 0,949	6,633 \pm 0,620	4,181 \pm 0,411

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

FIGURA 50 – Concentração de glicose (μmol /ml sangue), comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia Ala-Gln)

4.3.1.4 Comparação entre os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN) – SANGUE - Corpos cetônicos

Ocorreram diferenças significantes na concentração de corpos cetônicos no sangue dos ratos submetidos à isquemia e tratados com Ala-Gln (G-4), comparados ao respectivo controle (G-2) durante a reperfusão (T-1, T-3 e T-6). Observaram-se diferenças significantes entre T-6 e T-0 nos ratos do G-4.

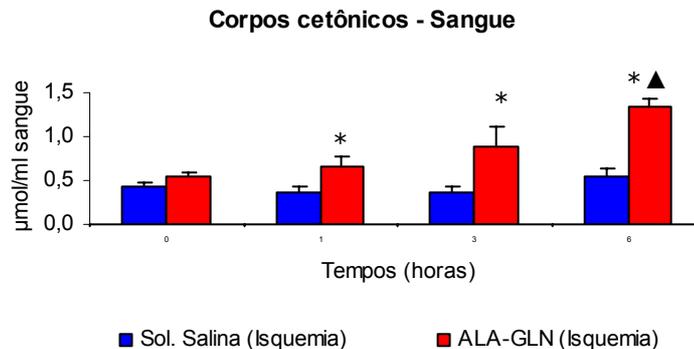
TABELA 42 – Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol} / \text{ml}$ sangue), comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia Ala-Gln)

TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina COM Isquemia (G-2)	0,426 \pm 0,054	0,373 \pm 0,058	0,367 \pm 0,063	0,541 \pm 0,097
L-Alanil-Glutamina COM Isquemia (G-4)	0,548 \pm 0,037	0,667 \pm 0,110*	0,887 \pm 0,222*	1,330 \pm 0,112*▲

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

▲ $p < 0,05$ comparado ao T-0 no mesmo grupo



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

▲ $p < 0,05$ comparado ao T-0 no mesmo grupo

FIGURA 51 – Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol} / \text{ml}$ sangue), comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia Ala-Gln)

4.3.2 RIM

4.3.2.1 Comparação entre os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN) – RIM - Piruvato

Ocorreram diferenças significantes na concentração de piruvato no tecido renal dos ratos submetidos à isquemia e tratados com Ala-Gln (G-4), comparados ao respectivo controle (G-2) durante a reperfusão (T-1 e T-3). Observaram-se diferenças significantes entre T-1 e T-0 nos ratos do G-4.

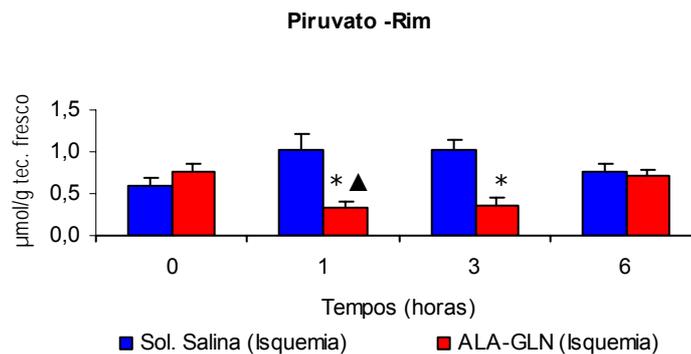
TABELA 43 – Concentração de piruvato ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia Ala-Gln)

TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina COM Isquemia (G-2)	0,605 \pm 0,093	1,013 \pm 0,191	1,028 \pm 0,111	0,768 \pm 0,095
L-Alanil-Glutamina COM Isquemia (G-4)	0,762 \pm 0,085	0,325 \pm 0,075* \blacktriangle	0,368 \pm 0,081*	0,707 \pm 0,075

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

* p<0,05 comparado ao respectivo controle

\blacktriangle p<0,05 comparado ao T-0 no mesmo grupo



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

* p<0,05 comparado ao respectivo controle

\blacktriangle p<0,05 comparado ao T-0 no mesmo grupo

FIGURA 52 – Concentração de piruvato ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia Ala-Gln)

4.3.2.2 Comparação entre os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN) – RIM - Lactato

Ocorreram diferenças significantes na concentração de lactato no tecido renal dos ratos submetidos à isquemia e tratados com Ala-Gln (G-4), comparados ao respectivo controle (G-2) durante a reperfusão (T-1 e T-3). Não ocorreram diferenças significantes entre os diversos tempos estudados no mesmo grupo.

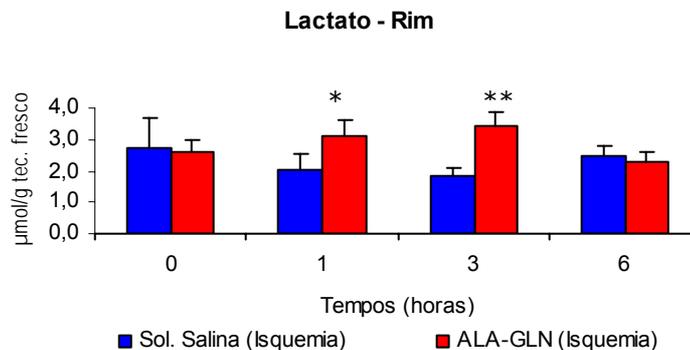
TABELA 44 – Concentração de lactato ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia Ala-Gln)

TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina COM Isquemia (G-2)	2,727 \pm 0,941	2,026 \pm 0,545	1,811 \pm 0,264	2,461 \pm 0,319
L-Alanil-Glutamina COM Isquemia (G-4)	2,596 \pm 0,392	3,129 \pm 0,488*	3,459 \pm 0,419**	2,313 \pm 0,298

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

** $p < 0,01$ comparado ao respectivo controle



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

** $p < 0,01$ comparado ao respectivo controle

FIGURA 53 – Concentração de lactato ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia Ala-Gln)

4.3.2.3 Comparação entre os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN) – RIM - Glicose

Ocorreram diferenças significantes na concentração de glicose no tecido renal dos ratos submetidos à isquemia e tratados com Ala-Gln (G-4), comparados ao respectivo controle (G-2) durante a reperfusão (T-3). Observaram-se diferenças significantes entre T-6 e T-0/T-1, nos ratos do G-4 e T-3 e T-1 nos ratos do G-2.

TABELA 45 – Concentração de glicose ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia Ala-Gln)

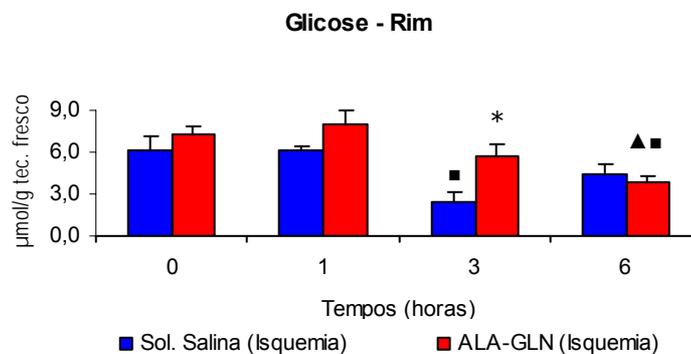
TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina COM Isquemia (G-2)	6,130 \pm 1,053	6,151 \pm 0,286	2,400 \pm 0,679 ■	4,433 \pm 0,737
L-Alanil-Glutamina COM Isquemia (G-4)	7,250 \pm 0,666	7,975 \pm 0,974	5,755 \pm 0,754*	3,887 \pm 0,401 ▲ ■

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

* p<0,05 comparado ao respectivo controle

▲ p<0,05 comparado ao T-0 no mesmo grupo

■ p<0,05 comparado ao T-1 no mesmo grupo



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

* p<0,05 comparado ao respectivo controle

▲ p<0,05 comparado ao T-0 no mesmo grupo

■ p<0,05 comparado ao T-1 no mesmo grupo

FIGURA 54 – Concentração de glicose ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia Ala-Gln)

4.3.2.4 Comparação entre os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN) – RIM - ATP

Não ocorreram diferenças significantes na concentração de ATP no sangue dos ratos submetidos à isquemia e tratados com Ala-Gln (G-4), comparados ao respectivo controle (G-2). Observaram-se diferenças significantes entre T-6 e T-3 no grupo G-2.

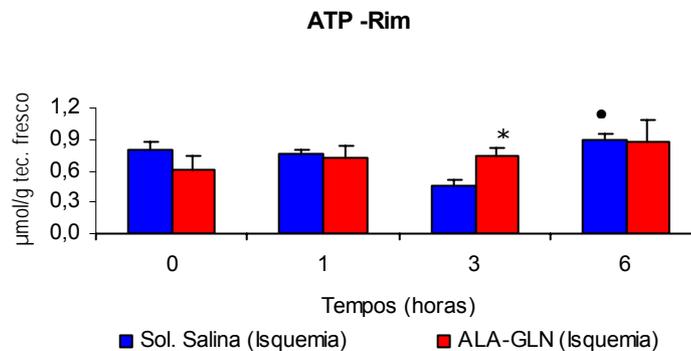
TABELA 46 – Concentração de ATP ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia Ala-Gln)

TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina COM Isquemia (G-2)	0,795 \pm 0,090	0,755 \pm 0,090	0,453 \pm 0,054	0,892 \pm 0,062●
L-Alanil-Glutamina COM Isquemia (G-4)	0,615 \pm 0,135	0,731 \pm 0,104	0,749 \pm 0,064*	0,885 \pm 0,200

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

● $p < 0,01$ comparado ao T-3 no mesmo grupo



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

● $p < 0,01$ comparado ao T-3 no mesmo grupo

FIGURA 55 – Concentração de ATP ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia Ala-Gln)

4.3.2.5 Comparação entre os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN) – RIM - Corpos cetônicos

Ocorreram diferenças significantes na concentração de corpos cetônicos no tecido renal dos ratos submetidos à isquemia e tratados com Ala-Gln (G-4), comparados ao respectivo controle (G-2) durante a reperfusão (T-3). Observaram-se diferenças significantes entre T-3 e T-0/T-1, nos ratos do G-2.

TABELA 47 – Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia Ala-Gln)

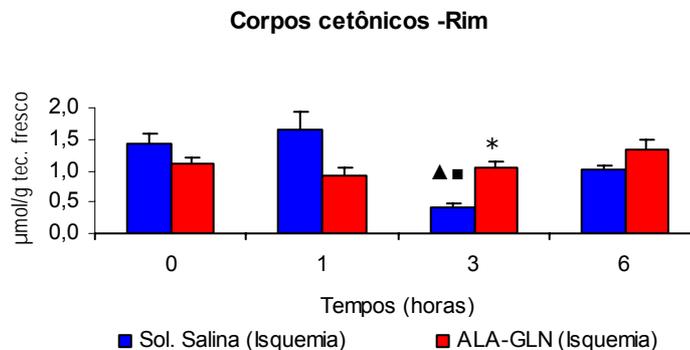
TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina COM Isquemia (G-2)	1,432 \pm 0,170	1,644 \pm 0,294	0,423 \pm 0,055▲■	1,010 \pm 0,070
L-Alanil-Glutamina COM Isquemia (G-4)	1,122 \pm 0,071	0,930 \pm 0,129	1,032 \pm 0,107*	1,334 \pm 0,170

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

▲ $p < 0,05$ comparado ao T-0 no mesmo grupo

■ $p < 0,05$ comparado ao T-1 no mesmo grupo



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

▲ $p < 0,05$ comparado ao T-0 no mesmo grupo

■ $p < 0,05$ comparado ao T-1 no mesmo grupo

FIGURA 56 – Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no rim, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia Ala-Gln)

4.3.3 FÍGADO

4.3.3.1 Comparação entre os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN) – FÍGADO - Piruvato

Ocorreram diferenças significantes na concentração de piruvato no tecido hepático dos ratos submetidos à isquemia e tratados com Ala-Gln (G-4), comparados ao respectivo controle (G-2) durante a reperfusão (T-1 e T-3). Observaram-se diferenças significantes entre T-3 e T-0 nos ratos do G-4.

TABELA 48 – Concentração de piruvato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia Ala-Gln)

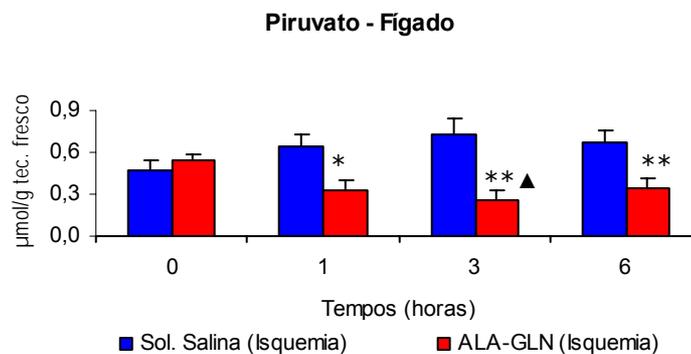
TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina COM Isquemia (G-2)	0,473 \pm 0,067	0,641 \pm 0,090	0,727 \pm 0,123	0,675 \pm 0,080
L-Alanil-Glutamina COM Isquemia (G-4)	0,548 \pm 0,040	0,331 \pm 0,062*	0,262 \pm 0,061** ▲	0,350 \pm 0,058**

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

** $p < 0,01$ comparado ao respectivo controle

▲ $p < 0,05$ comparado ao T-0 no mesmo grupo



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

▲ $p < 0,05$ comparado ao T-0 no mesmo grupo

** $p < 0,01$ comparado ao respectivo controle

FIGURA 57 – Concentração de piruvato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia Ala-Gln)

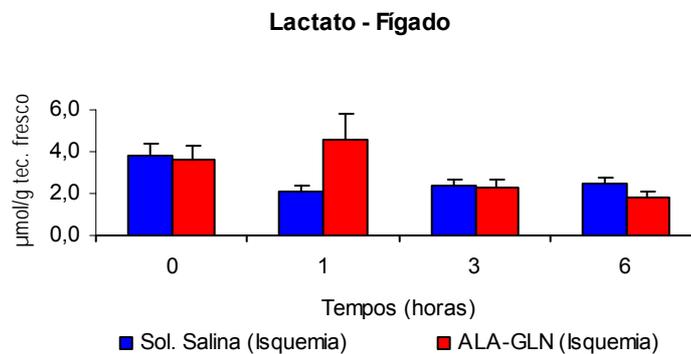
4.3.3.2 Comparação entre os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN) – FÍGADO - Lactato

Não ocorreram diferenças significantes na concentração de lactato no fígado dos ratos submetidos à isquemia e tratados com Ala-Gln (G-4), comparados ao respectivo controle (G-2). Não ocorreram diferenças significantes entre os diversos tempos estudados, no mesmo grupo.

TABELA 49 – Concentração de lactato ($\mu\text{mol /g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia Ala-Gln)

TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina COM Isquemia (G-2)	3,847 \pm 0,538	2,065 \pm 0,363	2,349 \pm 0,321	2,463 \pm 0,259
L-Alanil-Glutamina COM Isquemia (G-4)	3,576 \pm 0,702	4,568 \pm 1,200	2,311 \pm 0,330	1,793 \pm 0,298

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

FIGURA 58 – Concentração de lactato ($\mu\text{mol /g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia Ala-Gln)

4.3.3.3 Comparação entre os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN) – FÍGADO - Glicose

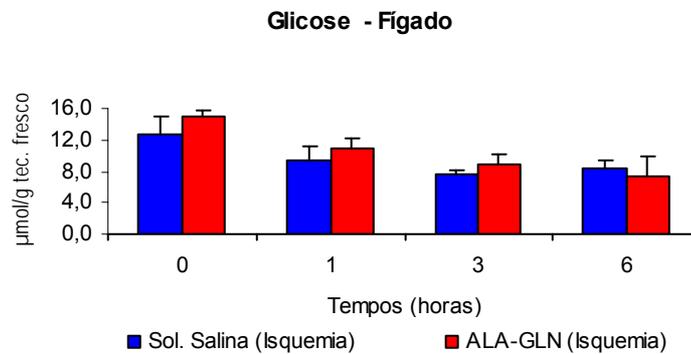
Não ocorreram diferenças significantes na concentração de glicose no sangue dos ratos submetidos à isquemia e tratados com Ala-Gln (G-4), comparados ao respectivo controle (G-2). Observaram-se diferenças significantes entre T-6 e T-3 no grupo G-2.

TABELA 50 – Concentração de glicose ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia Ala-Gln)

TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina COM Isquemia (G-2)	12,583 \pm 2,380	9,508 \pm 1,651	7,511 \pm 0,656	8,257 \pm 1,152
L-Alanil-Glutamina COM Isquemia (G-4)	14,920 \pm 0,877	11,000 \pm 1,086	8,932 \pm 1,233	7,463 \pm 2,490 \blacktriangle

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

\blacktriangle $p < 0,05$ comparado ao T-0 no mesmo grupo



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

FIGURA 59 – Concentração de glicose ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia Ala-Gln)

4.3.3.4 Comparação entre os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN) – FÍGADO - ATP

Ocorreram diferenças significantes na concentração de ATP no tecido hepático dos ratos submetidos à isquemia e tratados com Ala-Gln (G-4), comparados ao respectivo controle (G-2) durante a reperfusão (T-6). Observou-se diferença significativa entre T-3 e T-0 nos ratos do G-2.

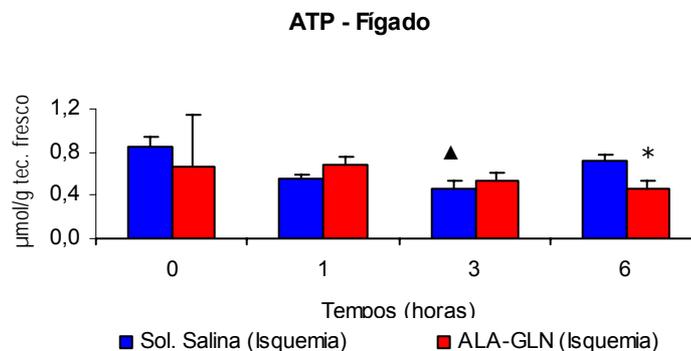
TABELA 51 – Concentração de ATP ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia Ala-Gln)

TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina COM Isquemia (G-2)	0,842 \pm 0,101	0,561 \pm 0,030	0,470 \pm 0,064▲	0,711 \pm 0,070
L-Alanil-Glutamina COM Isquemia (G-4)	0,656 \pm 0,489	0,690 \pm 0,076	0,531 \pm 0,086	0,469 \pm 0,065*

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

▲ $p < 0,05$ comparado ao T-0 no mesmo grupo



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

▲ $p < 0,05$ comparado ao T-0 no mesmo grupo

FIGURA 60 – Concentração de ATP ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia Ala-Gln)

4.3.3.5 Comparação entre os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN) – FÍGADO - Corpos cetônicos

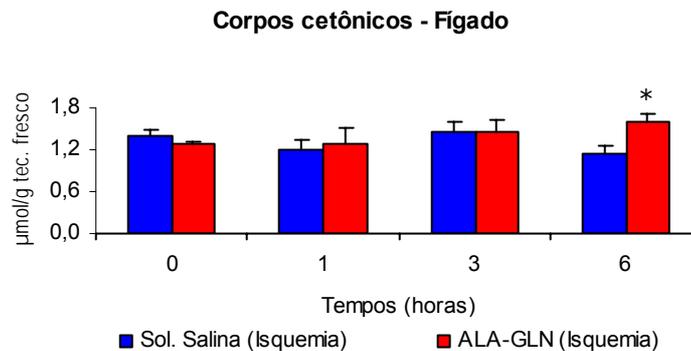
Ocorreram diferenças significantes na concentração de corpos cetônicos no tecido hepático dos ratos submetidos à isquemia e tratados com Ala-Gln (G-4), comparados ao respectivo controle (G-2) durante a reperfusão (T-6). Não ocorreram diferenças significantes entre os diversos tempos estudados no mesmo grupo.

TABELA 52 – Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia Ala-Gln)

TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina COM Isquemia (G-2)	1,410 \pm 0,079	1,204 \pm 0,131	1,457 \pm 0,135	1,152 \pm 0,938
L-Alanil-Glutamina COM Isquemia (G-4)	1,273 \pm 0,042	1,281 \pm 0,247	1,451 \pm 0,175	1,588 \pm 0,123*

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

FIGURA 61 – Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no fígado, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia Ala-Gln)

4.3.4 MÚSCULO

4.3.4.1 Comparação entre os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN) –MÚSCULO - Piruvato

Não ocorreram diferenças significantes na concentração de piruvato no tecido muscular dos ratos submetidos à isquemia e tratados com Ala-Gln (G-4), comparados ao respectivo controle (G-2). Observaram-se diferenças significantes entre T-6 e T-1 nos ratos do G-4.

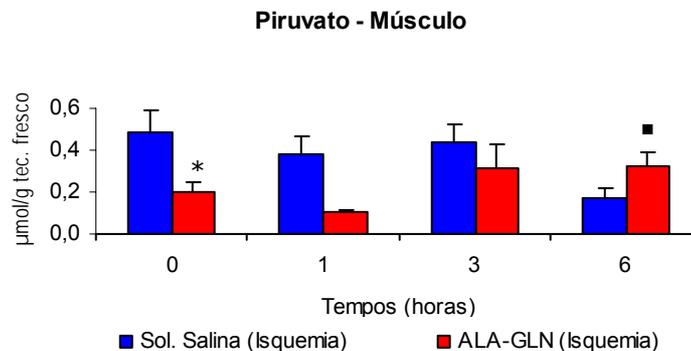
TABELA 53 – Concentração de piruvato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia Ala-Gln)

TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina COM Isquemia (G-2)	0,486 \pm 0,104	0,385 \pm 0,078	0,435 \pm 0,090	0,169 \pm 0,055
L-Alanil-Glutamina COM Isquemia (G-4)	0,204 \pm 0,046*	0,103 \pm 0,015	0,314 \pm 0,116	0,323 \pm 0,064■

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

■ $p < 0,05$ comparado ao T-1 no mesmo grupo



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

■ $p < 0,05$ comparado ao T-1 no mesmo grupo

FIGURA 62 – Concentração de piruvato ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia Ala-Gln)

4.3.4.2 Comparação entre os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN) – MÚSCULO - Lactato

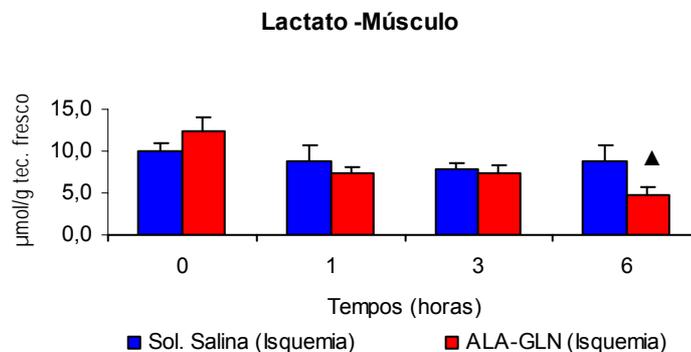
Não ocorreram diferenças significantes na concentração de lactato no tecido muscular dos ratos submetidos à isquemia e tratados com Ala-Gln (G-4), comparados ao respectivo controle. Observaram-se diferenças significantes entre T-6 e T-0 nos ratos do grupo G-4.

TABELA 54 – Concentração de lactato ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia Ala-Gln)

TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina COM Isquemia (G-2)	9,905 \pm 1,027	8,885 \pm 1,778	7,844 \pm 0,817	8.885 \pm 1,778
L-Alanil-Glutamina COM Isquemia (G-4)	12,280 \pm 1,766	7,395 \pm 0,595	7,489 \pm 0,920	4,745 \pm 0,889▲

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

▲p<0,05 comparado ao T-0 no mesmo grupo



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whittney em 6 ratos

▲p<0,05 comparado ao T-0 no mesmo grupo

FIGURA 63 – Concentração de lactato ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia Ala-Gln)

4.3.4.3 Comparação entre os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN) – MÚSCULO - Glicose

Ocorreram diferenças significantes na concentração de glicose no músculo dos ratos submetidos à isquemia e tratados com Ala-Gln (G-4), comparados ao respectivo controle (G-2) durante a reperfusão (T-6). Observaram-se diferenças significantes entre T-3 e T-0 nos ratos do G-2.

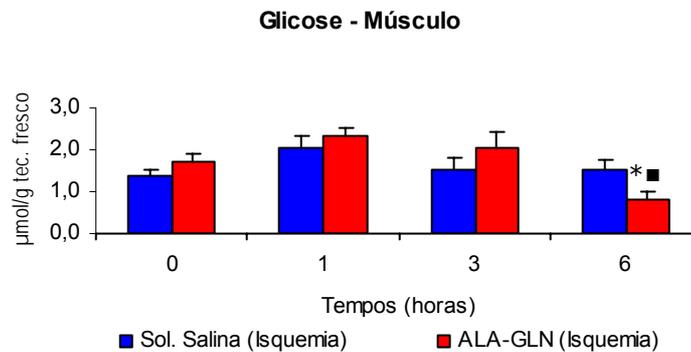
TABELA 55 – Concentração de glicose ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia Ala-Gln)

TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina COM Isquemia (G-2)	1,362 \pm 0,163	2,054 \pm 0,261	1,523 \pm 0,275	1,511 \pm 0,244
L-Alanil-Glutamina COM Isquemia (G-4)	1,716 \pm 0,206	2,349 \pm 0,174	2,036 \pm 0,412	0,798 \pm 0,183*■

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

■ $p < 0,05$ comparado ao T-1 no mesmo grupo



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

■ $p < 0,05$ comparado ao T-1 no mesmo grupo

FIGURA 64 – Concentração de glicose ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia Ala-Gln)

4.3.4.4 Comparação entre os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN) – MÚSCULO - ATP

Ocorreram diferenças significantes na concentração de ATP no músculo dos ratos submetidos à isquemia e tratados com Ala-Gln (G-4), comparados ao respectivo controle (G-2) durante a reperfusão (T-6). Observaram-se diferenças significantes entre T-3 e T-0 nos ratos do G-2.

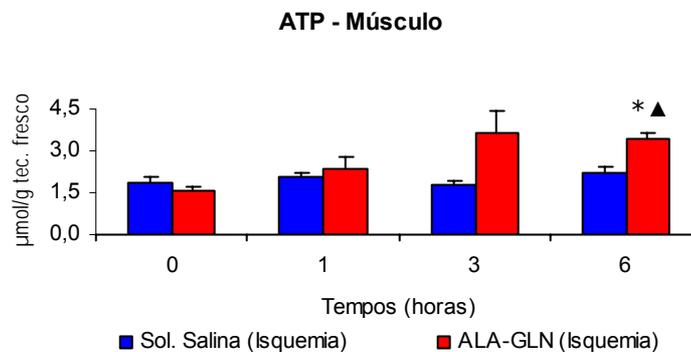
TABELA 56 – Concentração de ATP ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia Ala-Gln)

TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina COM Isquemia (G-2)	1,885 \pm 0,159	2,103 \pm 0,111	1,773 \pm 0,186	2,208 \pm 0,230
L-Alanil-Glutamina COM Isquemia (G-4)	1,574 \pm 0,131	2,362 \pm 0,435	3,653 \pm 0,784	3,405 \pm 0,245*▲

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

▲ $p < 0,05$ comparado ao T-0 no mesmo grupo



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

▲ $p < 0,05$ comparado ao T-0 no mesmo grupo

FIGURA 65 – Concentração de ATP ($\mu\text{mol} / \text{g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia Ala-Gln)

4.3.4.5 Comparação entre os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia ALA-GLN) – MÚSCULO - Corpos cetônicos

Ocorreram diferenças significantes na concentração de corpos cetônicos no músculo dos ratos submetidos à isquemia e tratados com Ala-Gln (G-4), comparados ao respectivo controle (G-2) durante a reperusão (T-6). Observaram-se diferenças significantes entre T-3 e T-0 nos ratos do G-2.

TABELA 57 – Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia Ala-Gln)

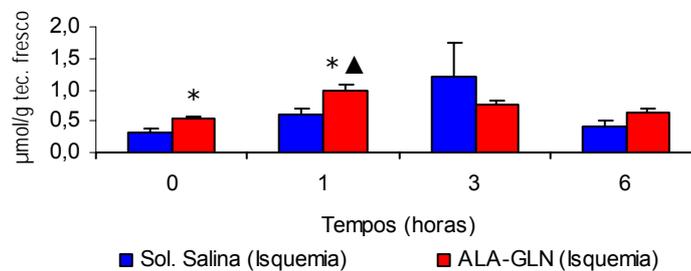
TRATAMENTO	TEMPOS (Horas)			
	0	1	3	6
Solução salina COM Isquemia (G-2)	0,323 \pm 0,068	0,596 \pm 0,102	1,205 \pm 0,556	0,422 \pm 0,088
L-Alanil-Glutamina COM Isquemia (G-4)	0,524 \pm 0,036*	0,983 \pm 0,094*▲	0,754 \pm 0,086	0,630 \pm 0,063

Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

▲ $p < 0,05$ comparado ao T-0 no mesmo grupo

Corpos cetônicos - Músculo



Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney em 6 ratos

* $p < 0,05$ comparado ao respectivo controle

▲ $p < 0,05$ comparado ao T-0 no mesmo grupo

FIGURA 66 – Concentração de corpos cetônicos ($\mu\text{mol/g}$ tecido fresco) no músculo, comparando-se os grupos G-2 (Isquemia Salina) e G-4 (Isquemia Ala-Gln)

5. DISCUSSÃO

O rato (*Rattus norvegicus*), da linhagem *Wistar*, foi escolhido como animal de experimentação. Trata-se de um mamífero de baixo custo de aquisição e manutenção, de fácil manuseio e elevada resistência à infecção e ao trauma cirúrgico, com admirável sistema de hemostasia. Por estas razões, é o animal preferido pela maioria dos pesquisadores para estudos experimentais (FESTING, 1979). Saliente-se ainda que o rato exibe uma anatomia arterial e venosa dos membros pélvicos semelhante ao do homem, viabilizando um bom modelo de isquemia regional.

Quanto à anestesia, optou-se pela inalatória, utilizando-se o éter dietílico, pela facilidade de uso com um mínimo de equipamento, apesar de suas conhecidas desvantagens, como indução de salivação excessiva e irritação do epitélio respiratório, além de eventuais arritmias cardíacas (REMIE et al., 1990).

Na quase totalidade dos estudos experimentais sobre isquemia do membro pélvico do rato, o mecanismo mais freqüentemente utilizado para ocluir o sistema arterial é a compressão extrínseca, por torniquete, com duração geralmente superior a duas horas. Tal método, apesar de evitar um procedimento operatório mais invasivo e delicado, apresenta a grande desvantagem de ocluir, além das artérias, os sistemas venoso e linfático. Some-se a isto a subjetividade na quantificação da intensidade compressora, afora o trauma sobre os nervos e partes moles da região comprimida, a somatória de suas repercussões regionais e sistêmicas (CORDEIRO; BARACT, 1983).

No presente estudo, para a obtenção de isquemia aguda e normotérmica, utilizou-se o pinçamento, sob visão direta, da artéria ilíaca comum esquerda do rato. A duração da isquemia foi de 3 horas. Tendo o cuidado de obstruir apenas a artéria, assemelha-se em muito ao que ocorre na vivência clínica, como nos freqüentes casos de isquemia aguda dos membros inferiores, por trombose ou embolia arterial (VOLLMAR, 1982; MELO, 1998). A oclusão da artéria ilíaca comum esquerda, utilizada no experimento, propicia uma maior intensidade de isquemia. Utilizando-se o método do torniquete, só é possível ocluir a artéria femoral comum, mais distal, e de menor eficácia isquêmica.

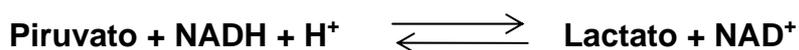
A isquemia experimental, utilizada no presente estudo, objetivou a observação de eventuais alterações metabólicas no sangue da aorta e no músculo sujeito à isquemia, além de seus efeitos à distância, sobre o fígado e o rim, em quatro diferentes tempos de reperfusão (0, 1, 3 e 6 horas). Além do mais, pretendeu-se verificar eventual diferença na concentração dos metabólitos estudados (lactato, piruvato, glicose, ATP e corpos cetônicos) em relação aos animais que receberam L-alanil-glutamina por gavagem 3 horas antes do início da isquemia, comparando-os com os animais que receberam, do mesmo modo, apenas solução salina.

Estudos experimentais, utilizando técnicas capazes de induzir fenômenos provocados por isquemia e reperfusão, podem promover alterações metabólicas na região sujeita à isquemia, como também, embora em menor intensidade, no restante do organismo (PARK *et al.*, 1998; RAO *et al.*, 1998; PREM *et al.*, 1999). No âmbito específico do metabolismo, todos os autores consultados abordam o substrato piruvato e, por este ocupar uma posição central, são considerados com freqüência o lactato, a glicose e os corpos cetônicos, especialmente o acetoacetato e o 3-hidroxiacetato (BOYLE *et al.*, 1996; VEZZOLI *et al.*, 1997; WHITE *et al.*, 1999). Foi utilizado no chamado grupo-experimental um peptídeo, precursor da glutamina, a L-alanil-glutamina, administrado diariamente, durante 7 dias, por gavagem. A literatura especializada relata, um sem número de estudos utilizando este dipeptídeo, em estudos experimentais (KHOGALI *et al.*, 1998; BRUCE *et al.*, 2001; TORRES *et al.*, 2003).

Todas as células podem gerar lactato e liberá-lo na circulação, como também todas elas são capazes de extrair lactato do sangue para usá-lo no metabolismo, exceto as hemácias, as células da retina e da medula da glândula supra-renal que são essencialmente glicolíticas. Em condições normais, o músculo esquelético, o cérebro, as hemácias e a pele são os principais produtores de lactato, enquanto o fígado e o rim cuidam, com destaque, de sua eliminação. Nesses órgãos, mais intensamente no fígado, através da LDH, converte-se em piruvato, que se transforma em glicose (gliconeogênese) ou através do ciclo tricarboxílico em ATP, CO₂ e H₂O. A geração de lactato nas hemácias, músculo esquelético, cérebro e pele, com posterior gliconeogênese pelo fígado (ciclo de Cori), é útil como mecanismo para manutenção da oferta de energia a órgãos que requerem glicose durante estados de jejum (WATERHOUSE; KEILSON, 1969). Segundo Kreisberg

(1972), os níveis de lactato dentro de uma célula estão determinados pelos níveis de piruvato e a relativa prevalência de NADH e NAD⁺.

A única via de síntese para a produção do lactato dentro das células é a conversão do piruvato a lactato, mediada pela enzima lactato-desidrogenase (LDH). Pela mesma reação, o lactato pode converter-se em piruvato. O NADH é um fator obrigatório para a reação (GREKIN, 1988).



Quando, circunstancialmente, alguns tecidos animais precisam funcionar anaerobicamente, o piruvato, oriundo da glicólise, não pode ser oxidado devido à falta de oxigênio; é, então, reduzido a lactato. Esse processo se denomina glicólise anaeróbica e se constitui uma importante fonte de ATP, especialmente na vigência de isquemia (LEHNINGER; NELSON; COX, 2000a).

A liberação de lactato dos tecidos para a corrente sangüínea depende da velocidade de formação deste metabólito a nível tissular, a partir do piruvato via reação catalisada pela LDH. Esse processo está na dependência das concentrações de piruvato e NADH. Nas situações isquêmicas, por exemplo, espera-se que a concentração de piruvato esteja aumentada, porque o ritmo de glicólise está aumentado, enquanto a oxidação do piruvato está diminuída. Além do mais, a relação NAD⁺/NADH também se encontra baixa durante a isquemia, a qual produz hipóxia tissular. Tais fatores contribuem para o expressivo aumento da síntese de lactato durante a isquemia (NEWSHOLME; START, 1981).

O piruvato é o produto final da via glicolítica e desempenha um papel central importante no metabolismo dos carboidratos e lipídios. No citosol, independentemente da presença de oxigênio, ocorre uma série de reações, que convertem 1 mol de glicose em 2 moles de piruvato, produzindo-se 2 moles de ATP (LEHNINGER; NELSON; COX, 2000a). A desaminação da alanina no fígado e da glutamina no rim produzem piruvato. Embora seja uma importante fonte da gliconeogênese, principalmente dentro do fígado, o piruvato é quantitativamente mais importante na glicólise. Nas mitocôndrias, a metabolização enzimática do piruvato necessita da presença do oxigênio. A piruvato-desidrogenase catalisa a descarboxilação do piruvato a acetil CoA, que é logo oxidada, através do ciclo

tricarboxílico, a dióxido de carbono e água. Este processo, de alta eficiência metabólica, explica a maior parte do metabolismo do piruvato, produzindo por mol de piruvato, 18 moles de ATP. Para se converter novamente em glicose, o piruvato se transforma em oxaloacetato via piruvato-carboxilase. Essas duas vias metabólicas do piruvato dependem de reações oxidativas nas mitocôndrias e, em casos de disfunção mitocondrial, como na isquemia, as alterações são significativas (GREKIN, 1988).

O fígado é o principal produtor da glicose, captando intensamente esse metabólito quando em abundância (hiperglicemia), assegurando a sua homeostase (MADISON et al., 1963).

Os corpos cetônicos (acetoacetato, 3-hidroxiacetato e a acetona) são sintetizados exclusivamente no fígado a partir da oxidação parcial dos ácidos graxos e podem ser utilizados como fonte energética pela maioria dos tecidos aeróbicos (músculo, cérebro, rim, mama, intestino delgado, entre outros), com exceção do próprio fígado. Como está presente em pequena quantidade, a acetona não tem importância fisiológica; é provavelmente derivada da descarboxilação espontânea do acetoacetato (NEWSHOLME; START, 1981).

A formação dos corpos cetônicos, considerada uma via de “superabundância”, é uma dentre as muitas maneiras que o fígado utiliza para ofertar combustíveis ao resto do organismo. Os corpos cetônicos, por serem uma importante via alternativa de combustíveis à glicose, atuam como poupadores de proteína endógena (LEHNINGER; NELSON; COX, 2000b).

Para a discussão dos resultados obtidos no presente estudo experimental, será observada a seguinte seqüência: validação do modelo, efeitos da L-alanil glutamina no trauma e efeitos do dipeptídeo sobre a isquemia/reperfusão.

Não foram observadas diferenças significantes nas concentrações de piruvato sangüíneo, comparando-se os grupos G-1 (*Sham*) e G-2 (Isquemia), ambos tratados com solução salina (Tabela 1, Figura 10).

O modelo de isquemia imposto pelo pinçamento da artéria ilíaca esquerda não causou diferença significativa na lactacemia em nenhum dos tempos estudados (Tabela 2, figura 11). Tal fato corrobora a favor de uma lesão isquêmica regional sem que esta cause acidose láctica, já que os níveis de lactato permaneceram entre 1,69 a 2,18 $\mu\text{mol/ml}$.

Houve aumento significativo das concentrações de glicose sangüínea no tempo 3h de reperfusão quando comparadas às aferidas no sangue de animais submetidos ao trauma sem isquemia (Tabela 3, Figura 12). Tal fato deve-se, provavelmente, ao desenvolvimento de maior intolerância à glicose e possivelmente maior resistência insulínica induzidas pela lesão de reperfusão caracterizado o chamado “diabetes de estresse”. Vasconcelos *et al.* (1989) demonstraram em ratos sépticos aumentos de colesterogênese hepática e da síntese de ácidos graxos, *in vivo*, associados a elevações da insulinemia e da disponibilidade de precursores gliconeogênicos, tais como lactato e piruvato.

O pinçamento da artéria ílica esquerda não causou alteração significativa na cetonemia dos animais em nenhum dos tempos estudados quando comparados os grupos entre si (Tabela 4, Figura 13), (*Sham* vs. Isquemia/reperfusão salina). As concentrações de corpos cetônicos, em ambos os grupos, permaneceram em torno de 0,4 μM , ou seja, compatíveis com o período de 24 horas em jejum infligido aos animais.

Houve elevação significativa das concentrações de piruvato no tecido renal dos animais nos três tempos de reperfusão (1, 3 e 6 horas) quando comparadas às concentrações de animais submetidos ao trauma sem isquemia (Tabela 5, Figura 14). O piruvato é o principal substrato utilizado para geração de energia no ciclo do ácido tricarbóxico. Elevação nas concentrações do piruvato no rim sugerem menor utilização deste composto no ciclo de Krebs para produção de energia, ou seja, a lesão de reperfusão nos seus três tempos induziu provavelmente a uma menor oxidação do piruvato no ciclo do ácido tricarbóxico, para geração de energia nos rins dos animais submetidos à reperfusão.

Houve redução das concentrações de lactato nos rins no tempo 3 horas de reperfusão, quando comparadas às concentrações de lactato no tempo 3 horas pós-trauma sem isquemia, sugerindo menor atividade glicolítica anaeróbica neste tempo (Tabela 6, Figura 15). Tal fato pode ser considerado como recuperação do tecido renal apesar de ele não ter ocorrido no tempo 6 horas após a reperfusão.

As concentrações de glicose no rim de animais submetidos à reperfusão aumentaram no tempo 6 horas de reperfusão quando comparadas às determinadas no mesmo tempo em animais submetidos ao trauma sem isquemia (Tabela 7, Figura 16). Tal fato sugere ou maior síntese de glicose pelos rins dos animais submetidos à isquemia/reperfusão, ou maior captação de glicose pelo tecido renal 6 horas após a

lesão de reperfusão, indicando provável recuperação da capacidade de captação de glicose pelo rim.

Houve diminuição dos corpos cetônicos no tempo 3 horas de reperfusão dos animais submetidos à isquemia/reperfusão, quando comparadas às aferidas no tempo 3 horas pós-trauma sem isquemia (Tabela 8, Figura 17). Tal fato sugere menor captação deste metabólito naquele tempo. Esse fato não ocorreu no tempo 6 horas de reperfusão, sugerindo menor captação ou maior oxidação pelo tecido renal dos corpos cetônicos naquele tempo.

As concentrações de ATP no tecido renal de animais submetidos à isquemia/reperfusão caíram significativamente no tempo 3 horas de reperfusão, quando comparadas às encontradas no tecido renal de animais submetidos a trauma sem isquemia no mesmo tempo (Tabela 9, Figura 18). Esse achado sugere maior utilização deste substrato para funções energéticas. Por outro lado, no tempo 6 horas, houve elevação nas concentrações de ATP no tecido renal de animais submetidos à reperfusão. O fato de ter havido acúmulo nas concentrações de ATP no tecido renal no tempo 6 horas de reperfusão vem ao encontro do achado da elevação de glicose no tempo 6 horas, sugerindo menor oxidação de glicose e menor utilização de ATP para os processos energéticos com conseqüentemente acúmulo deste nucleotídeo no tecido renal. No tempo 3 horas de reperfusão, houve redução nas concentrações de ATP nos rins destes animais. Tal fato encontra respaldo pela redução nas concentrações de lactato no mesmo tempo de reperfusão. Redução de lactato significaria dizer maior utilização da glicólise aeróbica neste tempo e maior consumo de ATP, justificando a queda deste metabólito no tempo 3 horas de reperfusão. No tempo 6 horas de reperfusão, houve acúmulo de glicose e maior concentração de ATP, sugerindo menor utilização de ATP para os processos energéticos.

Houve redução significativa nas concentrações de piruvato no tempo 1 hora de reperfusão (Tabela 10, Figura 19) nos animais submetidos à isquemia/reperfusão em relação ao grupo controle (*Sham*). Isto sugere maior utilização deste metabólito, ou seja, maior oxidação de piruvato no ciclo do ácido tricarboxílico com possível maior produção de energia. Por outro lado, no tempo 6h de reperfusão, houve maior concentração de piruvato no fígado desses animais submetidos à isquemia/reperfusão, sugerindo menor utilização desse substrato, e sua conseqüente oxidação imediata para uso no ciclo de Krebs para produção de

energia, ou seja, parece ter havido redução nas taxas de oxidação de piruvato durante a lesão de reperfusão com o passar do tempo.

A lesão de isquemia/reperfusão induziu elevação nas concentrações de lactato hepático no tempo máximo de isquemia e no tempo 6 horas de reperfusão quando comparadas às concentrações encontradas nos mesmos tempos no fígado de animais submetidos a trauma sem isquemia (Tabela 11, Figura 20). Tal fato sugere maior captação de lactato pelo fígado, que, por sua vez, será oxidado para produção de energia no próprio fígado ou transformado em glicose na gliconeogênese hepática. Uma possível maior captação de lactato pelo fígado pode decorrer de maior atividade do ciclo glicose-lactato (ciclo de Cori). Por outro lado, não houve diferença significativa na lactacemia, em nenhum dos tempos estudados, quando comparados os grupos, com as concentrações de lactato no sangue, não excedendo 2,2 mmol por litro (Tabela 2, Figura 11).

Não houve alteração significativa nas concentrações de glicose no fígado de animais submetidos à isquemia/reperfusão quando comparadas às concentrações aferidas no fígado de animais do grupo *sham* (Tabela 12, Figura 21).

Também não houve alteração estatisticamente significativa nas concentrações hepáticas de corpos cetônicos em animais submetidos à isquemia/reperfusão (Tabela 13, Figura 22) quando comparadas às concentrações destes metabólitos no fígado de animais submetidos ao trauma (*Sham*). Os corpos cetônicos são sintetizados no fígado e tal achado sugere síntese de corpos cetônicos semelhantes em ambos os grupos de animais estudados.

Houve queda nas concentrações hepáticas de ATP durante a lesão de reperfusão nos tempos 1 e 3 horas de reperfusão quando comparadas às concentrações deste nucleotídeo no fígado de animais submetidos a trauma sem isquemia (Tabela 14, Figura 23). Esse achado sugere maior utilização desse substrato no fígado de animais sujeitos à lesão de reperfusão nos tempos iniciais (1 e 3 horas). Por outro lado, houve aumento nas concentrações de ATP no tempo de 6 horas, sugerindo redução da utilização de ATP para funções energéticas no tempo 6 horas. Parece ter havido, portanto, menor utilização de ATP para produção de energia no tempo 6 horas, quando comparado aos tempos 1 e 3 horas de reperfusão.

A redução nas concentrações de piruvato, no fígado, nos animais isquêmicos, no tempo 1 hora de reperfusão, sugere maior queima de piruvato para

produção de ATP (Tabela 10, Figura 19). Esse resultado vai ao encontro do achado de menor acúmulo de ATP no fígado desses animais, sugerindo realmente, no tempo de 1h, maior utilização de piruvato para produção de energia e maior uso de ATP para funções energéticas neste tempo (1 hora). Por outro lado, do mesmo modo, o maior acúmulo de piruvato no tempo 6 horas de reperfusão sugere menor utilização de piruvato no ciclo de Krebs e menor produção e utilização tecidual local de ATP.

O acúmulo de concentração de lactato, no tempo 6 horas de reperfusão, no fígado de animais submetidos à isquemia/reperfusão (Tabela 11, Figura 20) sugere maior formação de lactato no tecido hepático, o que vem ao encontro e reforça o aumento de ATP naquele tempo.

A lesão de isquemia/reperfusão não induziu alterações significantes nas concentrações musculares de piruvato (Tabela 15, Figura 24), lactato (Tabela 16, Figura 25), glicose (Tabela 17, Figura 26) ou de ATP (Tabela 19, Figura 28). Houve, no tempo máximo de isquemia (zero hora), redução nas concentrações de corpos cetônicos no músculo, sugerindo ou menor captação dos corpos cetônicos ou maior utilização desses compostos naquele tecido (Tabela 18, Figura 27).

Sabe-se que a L-Ala-Gln sofre hidrólise no sangue e libera a glutamina, que é captada pelos tecidos ricos em glutaminase. Tais tecidos transformam glutamina em glutamato. O glutamato é um substrato importante no ciclo malato-aspartato, com possível atividade neste ciclo, causando possivelmente maior regeneração de NAD^+ no citosol, e estímulo para a transformação de uma molécula de glicose em duas moléculas de piruvato. No presente estudo, os animais traumatizados sem isquemia, porém submetidos à oferta de L-Ala-Gln, apresentaram acúmulo nas concentrações sanguíneas de piruvato no tempo zero (pós-trauma imediato), sugerindo maior conversão de glicose a piruvato, provavelmente por maior disponibilidade de NAD^+ no citosol e maior transformação de glicose em piruvato. Por outro lado, 6 horas após o trauma, houve redução nas concentrações de piruvato no sangue do grupo de animais traumatizados, sem isquemia, pré-tratados com L-Ala-Gln, sugerindo que o efeito de L-Ala-Gln por gavagem não perdurou até 6 horas após o trauma (Tabela 20, Figura 29).

Em relação aos corpos cetônicos, houve um comportamento exatamente inverso, ou seja, redução nas concentrações sanguíneas dos corpos cetônicos no tempo zero (pós-trauma imediato) e aumento das concentrações desse substrato, no sangue, no tempo 3 e 6 horas (Tabela 23, Figura 32). Sabe-se que a L-Ala-Gln

poderia exercer um efeito periférico ativando o ciclo malato-aspartato, regenerando NAD^+ , para maior queima da glicose em tecidos periféricos. A nível pancreático, um estímulo à glicólise nas células β do pâncreas levaria ao aumento da liberação de insulina por este órgão. A insulina é o principal hormônio regulador da síntese dos corpos cetônicos. A redução da cetonemia no tempo zero sugere menor produção de corpos cetônicos naquele tempo, o que pode significar provável ação da L-Ala-Gln elevando a oferta de insulina nesse tempo zero, que sinaliza para o fígado redução ou parada na cetogênese. No tempo 6 horas, houve aumento dos corpos cetônicos no sangue, sugerindo que o provável efeito elevatório da insulina é também breve e não perduraria até o tempo 6 horas pós-trauma sem isquemia. A oferta de L-Ala-Gln, a animais traumatizados sem isquemia, não modificou as concentrações de lactato (Tabela 21, Figura 30) ou glicose (Tabela 22, Figura 31), quando comparadas às concentrações deste metabólito entre os grupos.

A oferta de L-Ala-Gln induziu elevação significativa nas concentrações renais de piruvato no tempo zero (trauma imediato) e 6 horas pós-trauma (Tabela 24, Figura 33). Tal fato sugere menor utilização desse substrato para geração de energia no ciclo de Krebs, induzida pela oferta de dipeptídeo nos devidos tempos. Ao encontro de uma menor utilização de piruvato, encontra-se no tempo zero (Trauma imediato) elevação significativa nas concentrações de lactato em tecido renal, ou seja, no período imediatamente pós-trauma, parece ter havido utilização preferencial da via glicolítica anaeróbica.

A oferta de L-Ala-Gln, em animais traumatizados sem isquemia, acarretou diminuição das concentrações de lactato (Tabela 25, Figura 34) no tecido renal nos tempos 1 e 3 horas de reperfusão em relação ao tempo pós-trauma imediato (Tempo zero). Tal fato sugere maior utilização de energia através da glicólise aeróbica no tecido renal nesse tempo.

O trauma sem isquemia infligiu redução nas concentrações de glicose nos rins de animais tratados com solução salina no tempo 6 horas de trauma em relação ao tempo zero (pós-trauma). Por outro lado, nos animais traumatizados tratados com L-Ala-Gln, não houve redução significativa ao longo do tempo nas concentrações de glicose renal, permanecendo em torno de 4 a 5 milimoles por litro (Tabela 26 Figura 35). Comparando os grupos entre si, a oferta de L-Ala-Gln causou elevação na concentração de glicose no tempo 6 horas pós-trauma em relação ao grupo controle

no rim desses animais, sugerindo maior captação de glicose por esse tecido, ou menor utilização desse substrato pelo tecido renal.

O trauma sem isquemia em animais tratados com solução salina induziu redução nas concentrações renais de corpos cetônicos no tempo 6h pós-trauma em relação ao tempo zero (pós-trauma imediato). Tal fato sugere ou menor captação dos corpos cetônicos pelo tecido renal ou maior utilização desses compostos. Por outro lado, no grupo de animais traumatizados sem isquemia, tratados com L-Ala-Gln, ocorreu elevação significativa nas concentrações dos corpos cetônicos no tempo 6 horas em relação ao grupo de animais traumatizados sem isquemia pré-tratados com solução salina (Tabela 27, Figura 36). Isso sugere que a L-Ala-Gln induziu elevação das concentrações de corpos cetônicos nos rins, sugerindo ou maior captação ou menor utilização desses compostos no tempo 6 horas pós-trauma.

A oferta de L-Ala-Gln nos animais traumatizados sem isquemia induziu redução significativa das concentrações de ATP renal dos animais nos tempos zero, 1 e 6 horas pós-trauma, quando comparadas às concentrações de ATP em tecido renal de animais sujeitos a trauma sem isquemia pré-tratados com solução salina, sugerindo maior hidrólise de ATP para produção de energia nesses tempos, no período pós-trauma imediato. Por outro lado, houve acúmulo de ATP no tecido renal 6 horas pós-trauma, sugerindo redução na hidrólise desse substrato, ou seja, menor produção de energia nesse tempo (Tabela 28, Figura 37).

A oferta de L-Ala-Gln a animais traumatizados reduziu as concentrações hepáticas de piruvato no tempo 1 hora pós-trauma sem isquemia, sugerindo maior oxidação desse substrato para reprodução de energia no ciclo de Krebs (Tabela 29, Figura 38). Tal fato vem ao encontro da também redução de ATP hepático 1 hora pós-trauma sem isquemia em animais pré-tratados com o dipeptídeo. A redução das concentrações de ATP hepático sugere maior hidrólise desse substrato para produção de energia no fígado (Tabela 33, Figura 42).

Quanto ao lactato hepático, houve aumento das suas concentrações, induzido pela oferta de L-Ala-Gln em animais traumatizados sem isquemia, nos tempos zero e 6 horas, sugerindo maior captação de lactato pelo tecido hepático no tempo pós-trauma imediato e no tempo 6 horas pós-trauma (Tabela 30, Figura 39). Em relação a glicose, houve também aumento nas concentrações de glicose hepática induzido pela oferta de L-Ala-Gln em animais traumatizados sem isquemia nos

tempos zero e 6 horas pós-trauma, sugerindo maior produção de glicose no fígado desses animais, induzida pela oferta prévia de L-Ala-Gln (Tabela 31, Figura 40).

Houve queda dos corpos cetônicos, no tecido hepático, no tempo zero e 1 hora pós-trauma sem isquemia, o que vem de encontro à redução de cetonemia no tempo zero pós-trauma nesses animais recipientes da L-Ala-Gln, sugerindo provavelmente em função da ação da glutamina sobre o pâncreas, induzindo à elevação do hormônio insulina, que, por sua vez, possivelmente sinalizou, ao fígado, redução da síntese dos corpos cetônicos. Portanto a redução nas concentrações dos corpos cetônicos no fígado, zero e 1 hora pós-trauma sem isquemia em animais recipientes do dipeptídeo, sugere redução da cetogênese pelo fígado. Por outro lado, 6 horas pós-trauma sem isquemia, já há aumento da cetogênese, sugerindo que o efeito inibidor da cetogênese por uma provável elevação da insulinemia, desaparece 6 horas pós-trauma (Tabela 32, Figura 41).

As concentrações de ATP em animais recipientes de L-Ala-Gln ficaram reduzidas no fígado nos tempos 1 e 3 horas pós-trauma sem isquemia, sugerindo maior hidrólise de ATP e maior produção de energia nesses tempos (Tabela 33, Figura 42).

A L-Ala-Gln induziu aumento nas concentrações musculares de piruvato, nos tempos zero e 1 hora pós-trauma sem isquemia, sugerindo maior atividade da fase 1 da glicólise (transformação de glicose em piruvato) no tecido muscular no tempo zero pós-trauma sem isquemia (Tabela 34, Figura 43). Esse aumento da glicólise se deveu provavelmente pela ativação do ciclo malato-aspartato, com regeneração de NAD^+ , pela oferta do dipeptídeo L-Ala-Gln.

Em relação ao lactato, houve redução de suas concentrações *in vivo*, no tecido muscular, no tempo 1 hora pós-trauma sem isquemia, sugerindo menor atividade glicolítica anaeróbica e maior utilização de glicose na via aeróbica, nessa mesma fase 1h pós-trauma, induzida pela oferta de L-Ala-Gln (Tabela 35, Figura 44).

Houve aumento das concentrações de glicose em tecido muscular nos tempos zero e 3 horas pós-trauma sem isquemia em animais recipientes do dipeptídeo. O aumento nas concentrações musculares de glicose, induzido pela oferta de L-Ala-Gln, sugere maior captação desse substrato nos tempos 1 e 3 horas pós-trauma sem isquemia (Tabela 36, Figura 45).

Quanto aos corpos cetônicos, houve aumento nas concentrações de corpos cetônicos no músculo, no tempo 6 horas pós-trauma sem isquemia, sugerindo

maior captação desse substrato induzida pela oferta de L-Ala-Gln, fato esse que tem suporte na medida em que houve aumento nas concentrações de cetonemia no tempo 6 horas pós-trauma, ou seja, maior oferta de corpos cetônicos aos tecidos no referido tempo, induzida pela oferta do dipeptídeo (Tabela 37, Figura 46).

Quanto às concentrações de ATP muscular, a oferta de L-Ala-Gln a animais traumatizados sem isquemia não modificou a concentração de ATP no músculo desses animais, já que as concentrações de ATP foram semelhantes em ambos os grupos (Tabela 38, Figura 47).

A oferta de L-Ala-Gln a animais submetidos à isquemia/reperfusão não alterou as concentrações sangüíneas de piruvato em nenhum dos tempos estudados, durante a isquemia e a reperfusão (Tabela 39, Figura 48). Por outro lado, aumentou as concentrações de lactato no sangue nos tempos 1 e 6 horas de reperfusão. Aumento das concentrações sangüíneas de lactato nesses tempos sugere maior atividade da glicólise anaeróbica nos tecidos periféricos e maior disponibilidade de lactato para o sangue, induzidas pela ação pró-glicolítica promovida pela oferta prévia de L-Ala-Gln (Tabela 40, Figura 49).

O pré-tratamento com o dipeptídeo não promoveu qualquer alteração nas concentrações glicêmicas em nenhum dos tempos estudados, quando comparados os grupos submetidos à isquemia reperfusão pré-tratados com solução salina ou L-Ala-Gln (Tabela 41, Figura 50).

Houve aumento nas concentrações *in vivo* de corpos cetônicos durante a lesão de reperfusão nos três tempos 1, 3 e 6 horas, sugerindo ou maior produção de corpos cetônicos pelo fígado (aumento da cetogênese), ou menor utilização destes compostos pelos tecidos periféricos (Tabela 42, Figura 51).

No rim, a oferta de L-Ala-Gln induziu redução nas concentrações de piruvato nos tempos 1 e 3 horas de reperfusão, sugerindo maior utilização desse substrato na glicólise aeróbica em tecido renal, ou seja, maior utilização de piruvato no ciclo de Krebs na córtex renal, e conseqüentemente menores concentrações deste metabólito no tecido renal total (córtex e medula) (Tabela 43, Figura 52).

Quanto ao lactato, houve aumento nas concentrações de lactato no tecido renal nos tempos 1 e 3 horas de reperfusão em animais recipientes do dipeptídeo, com provável aumento da glicólise anaeróbica na medula renal durante esses tempos induzida pela oferta de L-Ala-Gln (Tabela 44, Figura 53). Sabe-se que a medula do rim é eminentemente glicolítica anaeróbica, pois só queima glicose e

transforma em lactato. Então o acúmulo de lactato em 1 e 3 horas de reperfusão em animais submetidos à isquemia/reperfusão tratados pela L-Ala-Gln sugere aumento da glicólise anaeróbica provavelmente pelo tecido medular renal

Houve aumento, no tempo 3 horas de reperfusão, nas concentrações de glicose renal dos animais recipientes de L-Ala-Gln, sugerindo maior captação de glicose neste tempo, apesar de a glicemia, naquele momento, ser semelhante em ambos os grupos (Tabela 45, Figura 54).

Houve aumento, no tempo 3 horas de reperfusão, nas concentrações de corpos cetônicos (Tabela 47, Figura 56) e ATP (Tabela 46, Figura 55) em tecido renal de animais recipientes do dipeptídeo. Entretanto o que realmente se verificou foi uma queda no grupo isquemia/reperfusão tratado com solução salina, muito mais do que uma elevação nas concentrações de ATP e corpos cetônicos no grupo recipiente de L-Ala-Gln, sugerindo que, no grupo tratado com L-Ala-Gln, houve manutenção das concentrações dos corpos cetônicos e de ATP nos tecidos renais desses animais.

A oferta de L-Ala-Gln induziu uma significativa redução nas concentrações hepáticas de piruvato nos tempos 1, 3 e 6 horas de reperfusão, sugerindo maior atividade energética, e utilização do piruvato no ciclo de Krebs, ou ciclo do ácido tricarbóxico, para produção de energia no fígado nos tempos de reperfusão nos animais tratados com L-Ala-Gln (Tabela 48, Figura 57).

Não houve modificações ou diferenças significantes nas concentrações hepáticas de lactato durante a lesão de isquemia/reperfusão nos animais tratados com solução salina ou L-Ala-Gln. As concentrações de lactato, no fígado, foram semelhantes em ambos os grupos (Tabela 49, Figura 58). Do mesmo modo, as concentrações hepáticas de glicose se mantiveram semelhantes entre os grupos em todos os tempos estudados (Tabela 50, Figura 59).

Em relação aos corpos cetônicos, houve um aumento nas concentrações hepáticas no tempo 6 horas de reperfusão, sugerindo aumento da síntese de corpos cetônicos nesse tempo. Isso corrobora com o aumento da cetonemia no tempo 6h desses animais, já que houve aumento da cetonemia nos tempos 1, 3 e 6 horas, de reperfusão, em animais recipientes de L-Ala-Gln (Tabela 52, Figura 61).

No tempo 6 horas de reperfusão, houve uma redução nas concentrações de ATP no fígado de animais tratados com L-Ala-Gln submetidos à lesão de isquemia/reperfusão quando comparadas às concentrações hepáticas de ATP em

animais recipientes de solução salina, submetidos à lesão de isquemia/reperfusão, sugerindo maior hidrólise desse substrato, maior utilização energética deste nucleotídeo nesse tempo pelos animais recipientes do dipeptídeo (Tabela 51, Figura 60).

A oferta de L-Ala-Gln reduziu as concentrações de piruvato no tempo zero, (Tabela 53, Figura 62) tempo de isquemia máxima, sugerindo maior utilização do piruvato nesse tempo para produção de energia. Mesmo na privação de oxigênio, houve uma queda de piruvato, sugerindo maior utilização desse substrato induzida pela oferta de L-Ala-Gln.

A oferta de L-Ala-Gln não alterou as concentrações de lactato (Tabela 54, Figura 63) no músculo e em nenhum dos tempos estudados. Semelhante achado foi encontrado por Fortes e colaboradores em humanos submetidos à isquemia/reperfusão em pacientes com isquemia crítica dos membros inferiores submetidos a revascularização distal.

Quanto à glicose (Tabela 55, Figura 64), houve redução nas concentrações no tempo 6 horas. Esta redução da concentração de glicose no tempo 6h sugere maior utilização desse substrato para geração de energia ou menor captação pelo tecido muscular nesse tempo de reperfusão.

Houve elevação dos corpos cetônicos (Tabela 57, Figura 66) no músculo nos tempos zero e 1 hora, sugerindo maior captação desse substrato, fato esse que tem suporte, já que os animais tratados com L-Ala-Gln submetidos à isquemia/reperfusão tiveram maior nível de cetonemia (concentração de corpos cetônicos no sangue) em 1 e 3 horas nos mesmos tempos em que o tecido muscular conseguiu captar mais esse substrato no tempo zero e 1h.

Houve maior elevação das concentrações musculares de ATP (Tabela 56, Figura 65) no tempo 6 horas de reperfusão nos animais submetidos à isquemia reperfusão e tratados com L-Ala-Gln, sugerindo menor hidrólise desse substrato e menor utilização de energia nos animais ofertados com L-Ala-Gln em relação aos animais submetidos à isquemia/reperfusão tratados com solução salina.

O dipeptídeo L-ALA-GLN estimulou a glicólise em tecidos periféricos e comportou-se como um “glucose burner” ajudando a reduzir a resistência insulínica característica do metabolismo durante o trauma e a lesão de isquemia/reperfusão.

A maior queima de glicose na periferia resultaria em provável redução de insulina plasmática, sinalizando para o aumento da cetogênese, hipercetonemia e

maior captação destes compostos pelos tecidos periféricos. O aumento do “turn over” de glicose pode ser devido a maior atividade glicolítica em tecido periférico, por maior disponibilidade de glutamato, ativando o ciclo malato-aspartato, promovendo maior regeneração de NAD^+ no citosol, propiciando, por sua vez, aumento da queima de glicose à piruvato (primeira fase da glicólise).

Suporte às hipóteses acima mencionadas, poderia ser dado à partir da dosagem de insulina plasmática e da atividade da enzima malato-desidrogenase, enzima chave da lançadeira malato-aspartato, em tecidos de hospedeiro pré-tratados com L-ALA-GLN. O uso de drogas que reduzam a resistência insulínica, tipo roseglitazonas, associadas à L-ALA-GLN, poderia ajudar a esclarecer o papel deste dipeptídeo na redução da resistência insulínica em modelos experimentais e clínicos.

6 CONCLUSÃO

O modelo de pinçamento da artéria ilíaca esquerda promove alterações metabólicas decorrentes da lesão de isquemia/reperfusão.

O dipeptídeo L-alanil-glutamina em animais submetidos ao trauma, induz elevação nas concentrações hepáticas de lactato, promove elevação de glicose muscular e redução de lactato no mesmo tecido. Esses achados indicam elevação no “turnover” de glicose.

Em animais submetidos ao pinçamento da artéria ilíaca comum esquerda, o dipeptídeo L-alanil-glutamina induz elevação das concentrações de corpos cetônicos no fígado, no sangue e no músculo, indicando aumento da cetogênese durante a lesão de reperfusão.

A oferta do dipeptídeo a animais durante a lesão de reperfusão causa, hiperlactacemia e elevação nas concentrações de lactato, indicando maior atividade glicolítica anaeróbica.

O aumento do “turnover” de glicose induzido pela oferta do dipeptídeo glutamina decorre da maior atividade glicolítica em tecidos periféricos, por maior disponibilidade de glutamato, causando possivelmente ativação do ciclo malato-aspartato

Maior atividade glicolítica resultante da oferta do dipeptídeo, durante a lesão de reperfusão, leva a redução da resistência insulínica com provável diminuição dos níveis plasmáticos do hormônio causando elevação da cetogênese, hipercetonemia e maior captação destes compostos em tecidos periféricos.

7. REFERÊNCIAS

AKGUN, S.; TEKELI, A.; ISBIR, S. C.; CIVELEK, A.'AK, K.; SIRV, X.; ARBAK, S.; YAYLIM, I.; ARSAN, S. FK506 to prevent lung injury after hindlimb ischemia and reperfusion in a rat model: an electron microscopic study. **Surg. Today**, v. 34, n. 8, p. 678-684, 2004.

ALVES, W. F.; GUIMARÃES, S. B.; VASCONCELOS, P. R. C.; VASCONCELOS, P. R. L. Repercussões da L-alanil-glutamina sobre as concentrações de lactato e lactato desidrogenase (LDH) em pacientes com isquemia crítica dos membros inferiores submetidos a revascularização distal. **Acta Cir. Bras.**, v. 18, n. 3, p. 209-215, 2003.

BABUCCU, O.; PEKSOY, I.; HOSNUTER, M.; KARGI, E.; BABUCCU, x. Evaluation by scintigraphy of hindlimb ischemia in a rat model. **J. Reconstr. Microsurg.**, v. 20, n.5, p. 405-410, 2004.

BARIE, P.S.; MULLINS, R.J. Current research review: experimental methods in the pathogenesis of limb ischemia. **J. Surg. Res.**, v. 44, p. 284-307, 1988.

BEZERRA FILHO, J. E.; GUIMARÃES, S. B.; CHAVES, C. R.; QUEIROZ, D. F.; VASCONCELOS, P. R. C.; VASCONCELOS, P. R. L. Effects of L-alanyl-glutamine on in vivo kidney and blood concentrations of glucose, pyruvate and lactate in rats subjected to unilateral renal ischemia and reperfusion. **Rev. Bras. Nutr. Clin.**, v. 17, n. 4, p. 122-125, 2002.

BOYLE, E. M. Jr.; POHLMAN, T. H.; CORNEJO, C.J.; VERRIER, E. Endothelial Cell Injury in Cardiovascular Surgery: Ischemia-Reperfusion. **Am. Thorac. Surg.**, v. 62, p. 1868-1875, 1996.

BRUCE, M.; CONSTANTIN-TEODOSIU, D.; GREENHAFF, P. L.; BOOBIS, L. H.; WILLIAMS, C.; BOWTELL, J. L. Glutamine supplementation promotes anaplerosis but not oxidative energy delivery in human skeletal muscle. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.**, v. 280, p. 669-75, 2001.

CHALLISS, R.A.J.; HAYES, D.J.; PETTY, R.F.H.; RADDA, G.K. An investigation of arterial insufficiency in rat hindlimb: a combined ³¹P-n.m.r. and blood flow study. **Biochem. J.**, v. 236, p. 461-467, 1986.

CORDEIRO, A. K.; BARACAT, F. F. **Anatomia do Sistema Linfático**. In: LINFOLOGIA, Fundação Byk-Prociencx, p. 7-27, 1983.

COTRAN, R.; KUMAR, V.; ROBBINS, S. **Robbins' Patologia estrutural e funcional**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996.

COUFFINHAL, T.; SILVER, M.; ZHENG, P.; KEARNEY, M.; WITZENBICHLER, B.; ISNER, J. M. Mouse model of angiogenesis. **Am. J. Pathol.**, v. 152, p.1667-1679, 1998.

CURTHOYS, N.P.; GSTRAUNTHALER, G. Mechanism of increased renal gene expression during metabolic acidosis. **Am.J. Physiol.**, v. 281, p. F381-F390, 2001.

DUAN, J.; MUROHARA, T.; IKEDA, H.; SASAKI, K-I.; SHINTANI, S.; AKITA, T.; SHIMADA, T.; IMAIZUMI, T. Hyperhomocysteinemia Impairs Angiogenesis in Response to Hindlimb Ischemia. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 20, p. 2579-2585, 2000.

EVORA, P. R. B.; PEARSON, P. J.; SECCOMBE, J. F.; SCHAFF, H. V. Lesão de Isquemia-Reperusão. Aspectos Fisiopatológicos e a Importância da Função Endotelial. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 66, n. 4, p. 239-245, 1996.

FELTRE, R. **Química orgânica**., São Paulo: Moderna, 3ª. Ed, v. 3, p.179-207, 1998.

FESTING, M. F. W. Suitability of the rat for different investigations. In: laboratory animals, mouse and rat. **Bethesda Fed Am Soc Exp Biol**;v.1, p.237-238, 1979.

GREKIN, R. J. Cetoacidosis, estado hiperosmolar y acidosis láctica. In: KOKKO, J. R.; TANNEN, R. L. **Líquidos y electrolitos**. Buenos Aires: Panamericana, 1988. cap.17, p. 811-813.

GSTRAUNTHALER, G.; HOLCOMB, T.; FEIFEL, E.; LIU, W.; SPITALER, N.; CURTHOYS, N.P. Differential expression and acid-base regulation of glutaminase mRNAs in gluconeogenic LLC-PK(1)-FBPase(+) cells. **Am. J. Physiol.**, v. 278, n. F227-F237, 2000.

GUIMARÃES FILHO, A.; GUIMARÃES, S. B.; VASCONCELOS, P. R. C.; VASCONCELOS, P. R. L. Efeitos metabólicos da oferta endovenosa de L-alanil-glutamina no sangue e fígado de ratos submetidos a hepatectomia parcial. **Rev. Bras. Nutr. Clin.**, 2004; v.19, n. 2, p.54-58, 2004.

HAMMARQVIST, F.; EJESSION, B.; WERNERMAN, J. Stress hormones initiate prolonged changes in the muscle amino acid pattern. **Clin. Physiol.**, 21: 44-50, 2001.

HAUSSINGER, D . Regulation of hepatic ammonia metabolism: the intercellular cycle. **Adv. Enzyme Regulat.**, 25: 159-180, 1986.

HOHORST H.J. D-Glucose-6-phosphate and D-fructose-6-phosphate. Determination with glucose-6-phosphate dehydrogenase and phosphoglucose isomerase. In: BERGMEYER, H.U. (Ed). **Methods of Enzymatic Analysis**, Verlag Chemie, Weinheim/Academic Press, New York, London, 1963. p.134-138,

HOHORST *apud* VASCONCELOS, P. R. L. Hepatic metabolism during sepsis. Oxford: University Oxford, 1987, p. 55, Tese (Doctor of Philosophy).

HONG, J. H.; BAHK, Y-W.; SUH, J. S.; KWAK, B. K.; SHIM, H. J.; KIM, J. S.; KIM, H. S.; MOON, Y. H.; KIM, S. J.; CHUNG, J. W.; PARK, J. H. An Experimental Model of Ischemia in Rabbit Hindlimb. **J. Korean Med. Sci.**, v. 16, p. 630-635, 2001.

JEPSON, M. M.; BATES, P. C.; BROADBENT, P.; PELL, J. M.; MILLWARD, D. J. Relationship between glutamine concentration and protein synthesis in rat skeletal muscle. **Am. J. Physiol.**, v. 255, n. 18, p. E166-E172, 1988.

KANNO, S.; ODA, N.; ABE, M.; SAITO, S.; HORI, K.; HANDA, Y.; TABAYASHI, K.; SATO, Y. Establishment of a Simple and Practical Procedure Applicable to Therapeutic Angiogenesis. **Circulation**, v. 99, p. 2682-2687, 1999.

KELTS, K.; KAISER, K. Experimental ischemic myopathy. **J. Neurol. Sci.**, 1979; v. 40, p. 23-27, 1979.

KHOGALI, S. E.; HARPER, A. A.; LYALL, J. A.; RENNIE, M. J. Effects of L-glutamine on post-ischaemic cardiac function: protection and rescue. **J. Moll. Cell. Cardiol.**, v. 30, p. 819-27, 1998.

KREBS, H. A. Metabolism of aminoacids. IV. The synthesis of glutamine from glutamic acid and ammonia and the enzymic hydrolysis of glutamine in animal tissues. **Biochem. J.**, v. 29, p. 1951, 1935.

KREISBERG, R. A. Glucose-lactate interrelations in man. **N. Engl. J. Med.**, v. 287, p. 132-137, 1972.

LAMPRECHT, W.; TRAUTSCHOLD, I. Determination with hexokinase and glucose-6-phosphate dehydrogenase. In: BERGMAYER, H.U.(Ed). **Methods of enzymatic analysis**, London: Verlag Chemie, Weinheim/Academic Press, 1963. p.543-551.

LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L; COX, M.M. A Glicólise e o Catabolismo das Hexoses. In: **Princípios da Bioquímica**. São Paulo, Sarvier, 2. ed., cap.14, 2000(a), p.297-330.

_____. A Oxidação dos Ácidos Graxos. In: **Princípios da Bioquímica**. São Paulo, Sarvier, 2. ed., cap.16, 2000 (b), p.355-374.

LLOYD, P.G.; YANG, H. T.; TERJUNG, R. L.. Arteriogenesis and angiogenesis in rat ischemic hindlimb: role of nitric oxide. **Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.**, v. 281, p. H2528-H2538, 2001.

LU, E.; WAGNER, W. R.; SCHELLENBERGER, U.; ABRAHAM, J. A.; KLIBANOV, A. L.; WOULFE, S. R.; CSIKARI, M. M.; FISCHER, D.; SCHREINER, G. F.; BRANDENBURGER, G. H.; VILLANUEVA, F. S. Targeted In Vivo Labeling of Receptors for Vascular Endothelial Growth Factor: Approach to Identification of Ischemic Tissue. **Circulation**. v. 108, p. 97-103, 2003.

LUNDBERG, G.; LUO, F.; BLEGEN, H.; KALIN, B.; WAHLBERG, E. A rat model for severe limb ischemia at rest. **Eur. Surg. Res.** v. 35, n. 5, p. 430-438, 2003.

MARINHO, H.S.P.C. Metabolismo do glutatono no fígado de rato normal e no fígado de rato hepatomizado. TESE (DOUTORADO em Bioquímica). Universidade de Lisboa; 1995, 115 p.

MELO, N. A. Síndrome isquêmica aguda. In: **Angiologia**. Ed Guanabara Koogan S. A., 1998. cap. 7, p. 65-74.

NEWSHOLME, E. A. START, C. Regulation of carbohydrate in liver. In: **Regulation in metabolism**. England. J. W. Arrowsmith Bristol, cap. 6, p. 247-291, 1981a.

_____. Regulation of carbohydrate metabolism in liver. In: **Regulation in metabolism**. England. J. W. Arrowsmith Bristol, 1981(a). cap. 6, p.271-282.

NEWSHOLME, E. A. START, C. Regulation of glycogen metabolism. In: **Regulation in metabolism**. England. J. W. Arrowsmith Bristol, cap. 4, p.157,1981.

NEWSHOLME, E.A.; NEWSHOLME, P.; CURI, R.; ARDAWI, M. S. M. A role for muscle in the immune system and its importance in surgery, trauma, sepsis and burns. **Nutrition**, v. 4, p. 261-268, 1988.

NEWSHOLME, E.A.; PARRY-BILLINGS, M Properties of glutamine release from muscle and its importance for the immune system. **J. Parent. Enter. Nutr.**, v. 14, p. 63-67, 1990.

NEWSHOLME, P. Why is L-glutamine metabolism important to cells of immune system in health, postinjury, surgery of infection? **J. Nutrition**, v. 131, p. 2615-2522, 2001.

NEWSHOLME, P.; CURI, R.; PITHON-CURI, T.C.; MURPHY, C.J.; GARCIA, C.; PIRES DE-MELO, M. Glutamine metabolism by lymphocytes, macrophages and neutrophils. Its importance in health and disease. **J. Nutr. Biochem.**, v. 10, p. 316-324, 1999.

NEWSHOLME, P.; LIMA, M. M. R.; PROCOPIO, J.; PITHON-CURI, T. C.; DOI, S. Q.; BAZOTTE, R. B.; CURI, R. Glutamine and glutamate as vital metabolites. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 36, n. 2, p. 153-163, 2003.

OWEN, O.E.; FELIG, P.; MORGAN, A.P.; WAHREN, J.; CAHILL JR, G.F. Liver and kidney metabolism during prolonged starvation. **J. Clin. Invest.**, v. 48, p. 574-583, 1969.

PARK, J. W., CHUN, Y. S., KIM, M. S., PARK, Y. C.; KWAK, S. J., PARK, S. C. Metabolic modulation of cellular redox potencial can improve cardiac recovery from ischemia-reperfusion injury. **Int J Cardiol**, v. 65, p. 139-47, 1998.

PARK, J. W., CHUN, Y. S., KIM, M. S., PARK, Y. C.; KWAK, S. J., PARK, S. C. Metabolic modulation of cellular redox potencial can improve cardiac recovery from ischemia-reperfusion injury. **Int J Cardiol**, v. 65, p. 139-47, 1998.

PERRY, M.O. Compartment syndromes and reperfusion injury. **Surg Clin North Am.**, v. 68, n. 4, p. 853-864, 1988.

PITHON-CURI, T.C.; LEVADA, A.C.; LOPES, L.R.; DOI, S.Q.; CURI, R. Glutamine plays a role in superoxide production and the expression of p47phox, p22phox and gp91phox in rat neutrophils. **Clin. Sci.**, v. 103, p. 403-408, 2002.

QUIÑONES, B.N. J. The role of fibrinolysis during reperfusion of ischemic skeletal muscles. **Microc. Endothelium Lymphatics**, v. 5, p. 299-314, 1989.

RAO, V. MERANTE, F., WEISEL, R. D., SHIRAI, T.; IKONOMIDIS, J. S., COHEN, G., TUMIATI, L. C., SHIONO, N., LI, R. K., MICKLE, D. A., ROBINSON, B. H. Insulin stimulates pyruvate dehydrogenase and protects human ventricular cardiomyocytes from simulated ischemia. **J. Thorac. Cardiovasc. Surg.**, v. 116, p. 485-94, 1998.

REMIE, R., BERTENS, P. M. G., VAN DONGEN, J. J., et al. **Manual of Microsurgery on the Laboratory Rat**, Anaesthesia of the laboratory rat. Elsevier Science Publishers B. V, 1990. cap. 6, p.61-69.

ROSKOSKI JR., R. **Bioquímica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997.
SEIFERT, F.C.; BANKER, M.; LANE, B.; BAGGE, U.; ANAGNOSTOPOULOS, C.E. An evaluation of resting arterial ischemia models in the rat hind limb. **J. Cardiovasc. Surg. (Torino)**, v. 26, n. 5, p. 502-508, 1985.

SLEIN M.W. Determination with hexokinase and glucose-6-phosphate dehydrogenase. In: Bergmeyer H.-U (Ed). **Methods of Enzymatic Analysis**, Verlag Chemie, Weinheim/Academic Press, New York, London, 1963. p.117-123.

STUMVOLL, M.; PERRIELLO, G.; MEYER, C.; GERICH, J. Role of glutamine in human carbohydrate metabolism in kidney and other tissues. **Kidney Internat.**, v. 5, p. 778-779, 1999.

SUGANO, M.; TSUCHIDA, K; MAKINO, N. A protein tyrosine phosphatase inhibitor accelerates angiogenesis in a rat model of hind ischemia. **J. Cardiovasc. Pharmacol.**, v. 44, n. 4, p. 460-465, 2004.

TORRES, J. M. S.; GUIMARÃES, S. B.; VASCONCELOS, P. R. L.; MARTINS, M. C. R.; CHAVES, C. R.; VASCONCELOS, P. R. C. Efeitos metabólicos da L-Alanil-Glutamina em ratos submetidos à isquemia da pata traseira esquerda, seguida de perfusão. **Acta Cir. Bras.**, v. 18, n. 1, p. 39-44, 2003.

TUPLING, R.; GREEN, H.; SENISTERRA, G.; LEPOCK, J.; MCKEE, N. Effects of 4-h ischemia and 1-h reperfusion on rat muscle sarcoplasmic reticulum function. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.**, v. 281, p. E867-E877, 2001.

VASCONCELOS, P. R. L.; KETTLEWELL, M. G. W.; GIBBONS, G. F.; WILLIAMSON, D. H. Increased rates of hepatic cholesterogenesis and fatty acid synthesis in septic rats *in vivo*: evidence for the possible involvement of insulin. **Clin. Sci.**, v. 76, p. 205-211, 1989.

VEITH, F.J.; GUPTA, S.K.; WENGERTER, K.R.; GOLDSMITH, J.; RIVERS, S.P.; BAKAL, C.W.; DIETZEK, A.M.; CYNAMON, J.; SPRAYREGEN, S.; GLIEDMAN, M. L. Changing arteriosclerotic disease patterns and management strategy in lower limb-threatening ischemia. **Ann. Surg.**, v. 212, n. 4, p. 412-414, 1990.

VEZZOLI, A., GUSSONI, M. GRECO, F., ZETTA, L., CERRETELLI, P. Quantitative analysis of anaerobic metabolism in resting anoxic muscle by ³¹P and IH MRS. **Biochem. Biophys. Acta**, v. 15, p. 195-207, 1997.

VOLLMAR, J. Akuter Arterienverschluss. In: **Rekonstruktive Chirurgie der Arterien**. Auflage: Georg Thiem Verlag,. 1982 . p. 245-265.

WAGENMAKERS, A.J. Muscle amino acid metabolism at rest and during exercise: role in human physiology and metabolism. **Exercise Sports Sci. Reviews**, v. 26, p. 287-314, 1998.

WATERHOUSE, C.; KEILSON, J. Cori cycle activity in man. **J. Clin. Invest.**, v. 48, p. 2359-2366, 1969.

WEISS, N.S. Cigarette smoking and atherosclerosis obliterans: an epidemiologic approach. **Am. J. Epidemiol.**, v. 95, p. 17- 36, 1990.

WHITE, L. T.; O'DONNELL, J. M.; GRIFFIN, J.; LEWNDOWSKI, E. D. Cytosolic redox state mediates postischemic response to pyruvate dehydrogenase stimulation. **Am. J. Physiol.**, v. 277, p.626-34, 1999.

WILLIAMSON, D. H.; MELLANBY, J.; KREBS, H. A. Enzymic determinations of the D-(-) β -hydroxybutyric acid and acetoacetic acid in blood. **Biochem J**; v.82, p.90-96, 1962.

YOUNG, V.R.; AJAMI, A.M. Glutamine: The emperor or his clothes? **J.Nutrition**, v. 131, p. 2449-2459, 2001.

ZACCAGNINI, G.; MARTELLI, F.; FASANARO, P.; MAGENTA, A.; GAETANO, C.; DI CARLO, A.; BIGLIOLI, P.; GIORGIO, M.; MARTIN-PADURA, I.; PELICCI, P.G.; CAPOGROSSI, M.C. p66ShcA modulates tissue response to hindlimb ischemia. **Circulation**, v.109, n. 23, p. 2917-23, 2004.

APÊNDICE A DADOS BRUTOS (1)

Sangue - PIRUVATO			
Grupo 1 - Solução Salina (Sham)			
T-0	T-1	T-3	T-6
0,530	0,222	0,385	0,759
0,252	0,321	0,775	0,582
0,211	0,254	0,184	0,197
0,322	0,697	0,150	0,650
0,016	0,862	0,459	0,710
0,181	0,581	0,439	0,440

Sangue - LACTATO			
Grupo 1 - Solução Salina (Sham)			
T-0	T-1	T-3	T-6
2,261	1,097	1,109	2,074
1,708	1,666	1,891	2,095
2,126	1,102	1,360	2,765
2,216	3,665	1,578	1,954
1,439	2,128	2,444	2,174
1,456	2,224	1,791	2,070

Sangue - GLICOSE			
Grupo 1 - Solução Salina (Sham)			
T-0	T-1	T-3	T-6
4,662	5,015	3,796	4,929
7,270	6,840	4,363	4,289
14,040	3,227	4,046	4,087
6,056	9,945	3,233	4,518
6,930	4,812	4,327	3,334
3,967	5,088	3,365	2,211

Sangue - CORPOS CETÔNICOS			
Grupo 1 - Solução Salina (Sham)			
T-0	T-1	T-3	T-6
0,498	0,319	0,369	0,601
0,460	0,403	0,492	0,581
0,546	0,423	0,367	0,599
0,729	0,330	0,422	0,140
0,381	0,771	0,187	0,119
0,554	0,356	0,409	0,683

Rim - PIRUVATO			
Grupo 1 - Solução Salina (Sham)			
T-0	T-1	T-3	T-6
0,290	0,908	0,226	0,372
0,324	0,201	0,276	0,299
0,588	0,346	0,458	0,364
0,509	0,329	0,704	0,250
0,317	0,142	0,514	0,341
0,521	0,306	0,348	0,356

Rim - LACTATO			
Grupo 1 - Solução Salina (Sham)			
T-0	T-1	T-3	T-6
2,849	1,329	6,874	1,423
3,054	2,258	3,609	1,283
2,947	1,267	3,082	0,741
1,989	2,866	2,669	3,790
2,989	2,105	4,480	1,505
3,101	4,098	2,311	1,287

Rim - GLICOSE			
Grupo 1 - Solução Salina (Sham)			
T-0	T-1	T-3	T-6
5,620	3,224	4,500	2,168
6,232	5,525	2,674	1,230
7,493	4,520	3,529	1,828
6,732	12,379	3,974	2,181
5,822	4,051	4,714	1,128
4,544	4,134	4,040	2,407

Rim - CORPOS CETÔNICOS			
Grupo 1 - Solução Salina (Sham)			
T-0	T-1	T-3	T-6
1,209	1,265	1,821	0,454
1,343	1,354	1,306	0,706
1,766	1,261	1,263	0,621
1,612	1,084	1,429	0,972
1,747	1,679	1,552	0,971
1,796	1,318	1,419	1,065

Grupo 1 - Solução Salina (Sham)			
Rim - ATP			
T-0	T-1	T-3	T-6
0,674	0,858	1,247	0,639
0,898	0,788	0,844	0,389
0,803	0,837	1,008	0,450
0,815	0,640	0,657	0,648
0,652	0,692	0,825	0,982
0,834	0,720	1,468	0,387

APÊNDICE A DADOS BRUTOS (2)

Fígado - PIRUVATO			
Grupo 1 - Solução Salina (Sham)			
T-0	T-1	T-3	T-6
0,533	1,281	0,807	0,429
0,203	1,061	0,839	0,373
0,892	0,866	1,014	0,370
0,784	0,561	1,222	0,435
0,430	0,876	0,792	0,320
0,673	0,986	0,717	0,751

Fígado - LACTATO			
Grupo 1 - Solução Salina (Sham)			
T-0	T-1	T-3	T-6
1,975	1,228	1,974	1,890
2,036	3,350	2,277	1,366
3,074	2,571	2,203	1,363
1,750	7,010	1,406	1,636
0,497	3,429	2,414	1,712
1,384	1,419	1,940	2,050

Fígado - GLICOSE			
Grupo 1 - Solução Salina (Sham)			
T-0	T-1	T-3	T-6
5,560	4,751	2,872	5,142
10,854	9,092	5,953	6,640
14,641	3,766	3,001	3,566
4,122	12,731	3,362	4,979
15,772	11,466	8,429	6,252
6,638	6,224	4,615	5,594

Fígado - CORPOS CETÔNICOS			
Grupo 1 - Solução Salina (Sham)			
T-0	T-1	T-3	T-6
1,339	1,818	2,419	1,025
1,489	1,113	1,288	1,557
2,208	1,294	1,385	1,052
1,777	1,029	1,637	1,256
1,021	1,330	1,245	1,453
1,730	1,905	1,265	1,977

Fígado - ATP			
Grupo 1 - Solução Salina (Sham)			
T-0	T-1	T-3	T-6
0,547	1,475	0,924	0,527
1,140	0,543	0,641	0,625
1,246	0,746	0,667	0,444
0,727	1,081	0,665	0,328
0,480	0,842	0,820	0,459
0,609	1,079	0,824	0,595

Músculo - PIRUVATO			
Grupo 1 - Solução Salina (Sham)			
T-0	T-1	T-3	T-6
0,118	0,087	0,339	0,242
0,342	0,537	0,439	0,124
0,384	0,584	0,266	0,257
0,150	0,389	0,362	0,386
0,438	0,421	0,135	0,357
0,353	0,225	0,492	0,840

Músculo - LACTATO			
Grupo 1 - Solução Salina (Sham)			
T-0	T-1	T-3	T-6
7,790	7,346	7,195	8,701
6,635	11,879	7,124	0,150
7,233	11,638	7,475	4,824
6,805	7,564	7,427	10,015
7,967	9,370	7,965	4,673
9,747	9,877	8,777	6,759

Músculo - GLICOSE			
Grupo 1 - Solução Salina (Sham)			
T-0	T-1	T-3	T-6
1,640	0,606	1,032	1,073
1,752	1,816	1,433	0,001
1,254	1,609	0,942	0,890
1,600	2,235	1,414	1,646
2,485	0,717	1,544	0,991
1,715	1,655	1,583	1,246

Músculo - CORPOS CETÔNICOS			
Grupo 1 - Solução Salina (Sham)			
T-0	T-1	T-3	T-6
1,009	0,537	0,739	0,561
0,588	0,759	0,576	0,093
0,333	0,531	1,013	0,394
0,687	0,935	0,587	0,481
0,879	0,860	0,385	0,536
0,760	0,678	0,443	0,725

Músculo - ATP			
Grupo 1 - Solução Salina (Sham)			
T-0	T-1	T-3	T-6
1,698	1,518	1,397	2,873
1,725	1,958	2,634	0,003
1,352	1,360	1,560	1,611
1,875	1,451	1,860	2,998
1,282	1,301	1,834	1,657
1,548	2,696	1,380	2,376

APÊNDICE A DADOS BRUTOS (3)

Sangue - PIRUVATO			
Grupo 2 - Solução Salina (Isquemia)			
T-0	T-1	T-3	T-6
0,736	0,376	0,220	0,129
0,555	0,245	0,191	0,496
0,032	0,323	0,187	0,240
0,406	0,376	0,169	0,402
0,554	0,168	0,177	0,476
0,643	0,143	0,290	0,364

Sangue - LACTATO			
Grupo 2 - Solução Salina (Isquemia)			
T-0	T-1	T-3	T-6
3,140	2,042	1,931	0,830
2,416	1,511	1,397	0,581
1,889	1,974	1,438	4,200
2,771	1,287	1,430	0,858
0,866	1,391	3,119	3,640
1,939	1,578	2,689	1,030

Sangue - GLICOSE			
Grupo 2 - Solução Salina (Isquemia)			
T-0	T-1	T-3	T-6
4,783	6,009	7,543	4,005
5,237	2,886	6,490	3,754
5,918	6,120	6,704	3,228
8,399	10,598	3,536	5,745
3,482	9,032	4,355	5,927
9,986	6,641	5,805	5,126

Sangue - CORPOS CETÔNICOS			
Grupo 2 - Solução Salina (Isquemia)			
T-0	T-1	T-3	T-6
0,656	0,411	0,658	0,331
0,365	0,197	0,327	0,741
0,324	0,562	0,213	0,675
0,338	0,289	0,325	0,345
0,358	0,499	0,393	0,312
0,513	0,277	0,286	0,841

Rim - PIRUVATO			
Grupo 2 - Solução Salina (Isquemia)			
T-0	T-1	T-3	T-6
0,566	0,374	1,003	0,467
1,009	1,056	1,326	0,490
0,627	0,619	0,737	0,970
0,325	1,025	1,384	0,886
0,477	1,656	0,785	0,984
0,624	1,350	0,931	0,813

Rim - LACTATO			
Grupo 2 - Solução Salina (Isquemia)			
T-0	T-1	T-3	T-6
7,200	4,731	1,683	2,314
2,600	1,445	1,311	2,802
2,335	1,780	1,094	2,699
1,067	1,338	2,311	3,414
2,286	1,344	2,827	1,066
0,873	1,516	1,640	2,471

Rim - GLICOSE			
Grupo 2 - Solução Salina (Isquemia)			
T-0	T-1	T-3	T-6
6,830	6,178	3,936	2,521
5,074	4,844	4,288	3,360
7,354	6,356	0,588	2,835
4,092	6,157	0,613	7,094
3,157	6,948	1,649	5,467
10,275	6,421	3,326	5,322

Rim - CORPOS CETÔNICOS			
Grupo 2 - Solução Salina (Isquemia)			
T-0	T-1	T-3	T-6
1,596	1,651	0,433	0,884
1,763	2,644	0,400	1,116
1,659	1,547	0,292	1,036
0,684	2,273	0,678	1,277
1,692	0,846	0,344	0,801
1,197	0,902	0,393	0,942

Rim - ATP			
Grupo 2 - Solução Salina (Isquemia)			
T-0	T-1	T-3	T-6
0,741	0,853	0,583	1,042
1,017	0,868	0,572	0,916
0,681	0,635	0,216	0,823
0,437	0,786	0,451	0,817
0,988	0,550	0,445	1,076
0,906	0,835	0,452	0,677

APÊNDICE A DADOS BRUTOS (4)

Fígado - PIRUVATO			
Grupo 2 - Solução Salina (Isquemia)			
T-0	T-1	T-3	T-6
0,329	0,204	0,989	0,563
0,495	0,733	0,869	0,855
0,564	0,628	1,076	0,442
0,363	0,731	0,659	0,555
0,340	0,772	0,361	0,951
0,745	0,778	0,408	0,682

Fígado - LACTATO			
Grupo 2 - Solução Salina (Isquemia)			
T-0	T-1	T-3	T-6
4,097	0,810	1,618	2,395
2,386	1,457	1,953	2,186
2,214	3,020	2,218	3,125
5,429	3,014	1,802	2,108
3,966	2,355	3,733	1,655
4,989	1,735	2,770	3,310

Fígado - GLICOSE			
Grupo 2 - Solução Salina (Isquemia)			
T-0	T-1	T-3	T-6
5,899	2,303	6,702	7,742
10,911	13,088	8,399	10,430
15,660	8,339	7,898	2,875
15,489	13,132	6,199	9,788
20,899	11,058	5,784	10,098
6,638	9,126	10,084	8,610

Fígado - CORPOS CETÔNICOS			
Grupo 2 - Solução Salina (Isquemia)			
T-0	T-1	T-3	T-6
1,235	1,036	1,378	1,245
1,459	1,220	1,751	1,032
1,561	1,499	1,724	1,452
1,134	1,390	0,899	0,792
1,648	1,434	1,308	1,104
1,423	0,647	1,682	1,290

Fígado - ATP			
Grupo 2 - Solução Salina (Isquemia)			
T-0	T-1	T-3	T-6
0,630	0,548	0,436	0,842
0,777	0,516	0,458	0,605
0,734	0,687	0,730	0,991
0,613	0,605	0,314	0,531
1,121	0,524	0,322	0,639
1,177	0,486	0,561	0,658

Músculo - PIRUVATO			
Grupo 2 - Solução Salina (Isquemia)			
T-0	T-1	T-3	T-6
0,222	0,557	0,264	0,095
0,916	0,427	0,699	0,139
0,403	0,022	0,103	0,397
0,655	0,371	0,418	0,100
0,370	0,524	0,530	0,253
0,351	0,409	0,596	0,030

Músculo - LACTATO			
Grupo 2 - Solução Salina (Isquemia)			
T-0	T-1	T-3	T-6
13,314	7,280	5,986	15,851
9,407	4,700	7,250	11,165
9,424	11,900	7,278	9,349
5,938	8,100	7,474	4,620
9,528	5,600	11,779	8,155
11,816	2,419	7,295	4,171

Músculo - GLICOSE			
Grupo 2 - Solução Salina (Isquemia)			
T-0	T-1	T-3	T-6
0,914	3,260	0,863	0,929
1,141	1,938	0,996	1,797
1,340	1,918	2,547	2,563
1,407	2,145	1,046	1,381
1,274	1,596	2,045	1,348
2,094	1,466	1,639	1,048

Músculo - CORPOS CETÔNICOS			
Grupo 2 - Solução Salina (Isquemia)			
T-0	T-1	T-3	T-6
0,425	0,285	0,316	0,341
0,172	0,607	0,553	0,319
0,207	1,026	0,310	0,414
0,589	0,648	2,057	0,140
0,369	0,573	3,622	0,555
0,178	0,434	0,369	0,762

Músculo - ATP			
Grupo 2 - Solução Salina (Isquemia)			
T-0	T-1	T-3	T-6
2,195	1,980	2,030	1,850
1,299	2,211	1,021	1,933
2,272	2,391	2,055	1,485
1,656	1,916	1,387	2,343
1,708	2,393	2,047	2,595
2,179	1,726	2,095	3,044

APÊNDICE A DADOS BRUTOS (5)

Sangue - PIRUVATO			
Grupo 3 - Ala-Gln (Sham)			
T-0	T-1	T-3	T-6
0,574	0,762	0,251	0,570
0,785	0,761	0,336	0,072
0,708	0,089	0,603	0,204
0,584	0,401	0,188	0,206
0,354	0,332	0,211	0,098
0,521	0,376	0,091	0,224

Sangue - LACTATO			
Grupo 3 - Ala-Gln (Sham)			
T-0	T-1	T-3	T-6
1,923	1,487	0,028	2,231
2,181	1,345	2,522	2,102
0,579	1,175	2,628	1,849
2,333	2,988	2,011	1,668
2,285	1,523	1,254	1,630
2,875	3,998	2,906	1,348

Sangue - GLICOSE			
Grupo 3 - Ala-Gln (Sham)			
T-0	T-1	T-3	T-6
6,594	5,793	5,793	8,409
5,676	6,661	6,661	2,107
4,488	6,845	6,845	4,511
5,144	3,946	3,946	4,521
6,561	3,896	3,896	4,076
4,780	6,073	6,073	3,750

Sangue - CORPOS CETÔNICOS			
Grupo 3 - Ala-Gln (Sham)			
T-0	T-1	T-3	T-6
0,429	0,317	1,401	1,273
0,382	0,384	0,559	0,812
0,263	0,514	0,665	2,589
0,312	0,488	0,673	1,099
0,331	0,557	0,888	0,772
0,281	0,596	1,111	0,680

Rim - PIRUVATO			
Grupo 3 - Ala-Gln (Sham)			
T-0	T-1	T-3	T-6
0,643	0,589	0,189	0,466
0,927	0,592	0,524	0,518
0,549	0,705	0,403	0,964
0,709	0,641	0,891	0,839
0,961	0,554	0,624	0,720
1,090	0,853	0,835	0,471

Rim - LACTATO			
Grupo 3 - Ala-Gln (Sham)			
T-0	T-1	T-3	T-6
3,998	1,869	2,287	2,602
5,724	1,455	1,084	2,876
4,890	0,820	1,729	2,907
20,972	0,406	1,967	3,463
3,832	2,238	3,805	1,307
4,112	1,083	1,837	2,344

Rim - GLICOSE			
Grupo 3 - Ala-Gln (Sham)			
T-0	T-1	T-3	T-6
4,476	5,720	5,712	1,415
10,799	4,821	3,949	7,553
1,510	4,751	6,796	5,451
2,572	4,060	6,364	2,375
6,729	3,852	5,470	6,013
6,685	3,436	5,847	3,567

Rim - CORPOS CETÔNICOS			
Grupo 3 - Ala-Gln (Sham)			
T-0	T-1	T-3	T-6
1,621	1,290	1,387	1,827
1,179	0,975	0,898	1,478
1,216	1,130	1,404	1,128
1,088	1,344	1,478	1,094
1,590	1,291	1,977	0,779
1,578	1,329	1,348	1,425

Rim - ATP			
T-0	T-1	T-3	T-6
0,663	0,443	0,752	0,918
0,312	0,465	0,972	1,001
0,320	0,184	0,714	0,700
0,550	0,454	0,750	0,698
0,332	0,485	0,388	0,829
0,649	0,564	0,661	2,757

APÊNDICE A DADOS BRUTOS (6)

Fígado - PIRUVATO			
Grupo 3 - Ala-Gln (Sham)			
T-0	T-1	T-3	T-6
0,794	0,552	1,427	0,327
0,720	0,536	0,413	0,553
0,805	0,487	0,381	0,511
0,491	0,243	0,505	0,438
0,995	0,473	0,403	0,384
0,572	0,773	0,750	0,989

Fígado - LACTATO			
Grupo 3 - Ala-Gln (Sham)			
T-0	T-1	T-3	T-6
4,513	1,591	7,987	3,077
7,142	3,089	2,701	2,982
1,875	1,660	1,602	2,941
3,044	1,349	1,648	3,013
9,812	1,647	2,359	4,960
4,345	0,899	1,369	3,309

Fígado - GLICOSE			
Grupo 3 - Ala-Gln (Sham)			
T-0	T-1	T-3	T-6
20,371	13,609	16,886	7,204
23,389	16,638	5,933	8,644
14,633	9,204	8,243	16,694
15,187	9,107	8,281	8,718
17,702	8,301	4,933	7,015
12,199	8,081	10,707	11,093

Fígado - CORPOS CETÔNICOS			
Grupo 3 - Ala-Gln (Sham)			
T-0	T-1	T-3	T-6
1,032	0,723	3,297	2,298
0,677	0,789	0,912	1,795
1,267	0,823	1,815	2,077
0,476	0,762	1,530	1,671
0,599	0,961	1,500	1,995
0,952	0,598	1,487	1,832

Fígado - ATP			
T-0	T-1	T-3	T-6
0,249	0,293	0,204	0,666
0,806	0,286	0,496	0,624
0,243	0,210	0,623	0,622
0,260	0,231	0,577	0,579
0,126	0,417	0,476	0,544
0,564	0,300	0,612	0,534

Músculo - PIRUVATO			
Grupo 3 - Ala-Gln (Sham)			
T-0	T-1	T-3	T-6
1,358	0,779	0,527	0,968
1,356	2,071	0,494	0,343
1,902	1,28	0,168	0,144
2,245	1,197	0,299	0,083
1,11	0,503	0,361	0,202
1,069	1,471	0,269	0,249

Músculo - LACTATO			
Grupo 3 - Ala-Gln (Sham)			
T-0	T-1	T-3	T-6
13,968	5,029	7,494	3,807
18,929	5,145	5,274	3,692
9,534	4,689	10,524	2,391
8,390	9,262	3,317	1,980
8,508	5,008	7,341	4,305
7,466	7,351	4,917	3,705

Músculo - GLICOSE			
Grupo 3 - Ala-Gln (Sham)			
T-0	T-1	T-3	T-6
2,407	1,489	1,843	0,940
3,695	1,060	1,452	1,506
2,227	1,461	2,303	1,101
2,493	1,665	1,110	0,923
2,742	2,021	1,128	1,106
2,060	1,890	1,371	0,913

Músculo - CORPOS CETÔNICOS			
Grupo 3 - Ala-Gln (Sham)			
T-0	T-1	T-3	T-6
0,711	0,469	0,903	1,024
0,811	0,743	0,785	1,006
0,615	0,601	0,642	1,018
0,592	0,501	0,682	0,814
0,507	0,452	0,503	0,618
0,481	1,715	0,541	2,159

Músculo - ATP			
T-0	T-1	T-3	T-6
0,690	1,339	1,904	2,280
1,600	1,384	1,456	5,113
1,471	1,083	2,437	2,020
2,313	1,659	0,219	1,898
2,072	1,206	1,956	3,209
1,451	1,330	4,224	2,168

APÊNDICE A DADOS BRUTOS (7)

Sangue - PIRUVATO			
Grupo 4 - AlaGln (Isquemia)			
T-0	T-1	T-3	T-6
0,221	0,035	0,208	0,205
0,153	0,578	0,354	0,385
0,260	0,226	0,414	0,322
0,402	0,344	0,378	0,322
0,201	0,196	0,170	0,329
0,217	0,308	0,444	0,622

Sangue - LACTATO			
Grupo 4 - AlaGln (Isquemia)			
T-0	T-1	T-3	T-6
0,645	3,063	2,612	1,725
1,347	3,084	2,922	1,971
1,901	4,259	2,368	5,113
3,623	3,499	3,803	
1,898	2,416	1,010	1,521
2,105	2,919	1,610	2,529

Sangue - GLICOSE			
Grupo 4 - AlaGln (Isquemia)			
T-0	T-1	T-3	T-6
1,894	11,344	7,663	3,905
6,593	5,413	6,508	5,146
7,009	5,039	7,201	4,334
11,239	7,667	10,548	
8,353	8,426	3,725	4,759
10,033	8,647	4,151	2,760

Sangue - CORPOS CETÔNICOS			
Grupo 4 - AlaGln (Isquemia)			
T-0	T-1	T-3	T-6
0,505	1,033	0,459	1,067
0,540	0,884	0,743	1,188
0,554	0,514	0,425	1,342
0,702	0,745	0,556	
0,565	0,524	1,448	1,323
0,421	0,303	1,688	1,731

Rim - PIRUVATO			
Grupo 4 - AlaGln (Isquemia)			
T-0	T-1	T-3	T-6
0,433	0,314	0,425	0,958
1,046	0,275	0,069	0,514
0,810	0,402	0,641	0,754
0,817	0,607	0,492	0,864
0,841	0,038	0,268	0,513
0,625	0,316	0,312	0,638

Rim - LACTATO			
Grupo 4 - AlaGln (Isquemia)			
T-0	T-1	T-3	T-6
2,543	4,758	5,492	2,426
1,728	1,877	3,233	1,814
2,145	4,050	2,658	2,840
3,163	2,757	3,369	3,346
1,773	1,800	2,962	1,298
4,223	3,534	3,041	2,154

Rim - GLICOSE			
Grupo 4 - AlaGln (Isquemia)			
T-0	T-1	T-3	T-6
7,722	11,228	6,543	3,715
7,680	9,218	5,559	4,741
6,183	4,903	6,380	4,889
10,067	7,271	8,557	4,028
5,531	5,863	3,891	2,148
6,319	9,367	3,597	3,801

Rim - CORPOS CETÔNICOS			
Grupo 4 - AlaGln (Isquemia)			
T-0	T-1	T-3	T-6
1,322	1,151	1,419	1,235
1,352	1,153	1,242	0,901
0,968	0,919	1,084	2,076
0,959	0,336	0,810	1,421
1,024	1,148	0,862	1,006
1,109	0,874	0,776	1,364

Grupo 4 - AlaGln (Isquemia)			
Rim - ATP			
T-0	T-1	T-3	T-6
0,470	0,912	0,807	0,312
0,622	0,331	0,756	1,771
0,663	0,612	0,447	0,873
0,198	1,076	0,747	0,875
0,539	0,745	0,847	0,599
1,200	0,712	0,892	0,881

APÉNDICE A DADOS BRUTOS (8)

Fígado - PIRUVATO			
Grupo 4 - AlaGln (Isquemia)			
T-0	T-1	T-3	T-6
0,523	0,221	0,289	0,156
0,511	0,204	0,320	0,385
0,408	0,288	0,397	0,350
0,651	0,241	0,120	0,215
0,668	0,584	0,039	0,483
0,529	0,450	0,404	0,508

Fígado - LACTATO			
Grupo 4 - AlaGln (Isquemia)			
T-0	T-1	T-3	T-6
3,118	7,551	1,727	1,928
1,476	4,382	2,405	3,175
3,768	2,399	3,352	1,545
4,487	0,179	3,193	1,124
2,274	5,178	1,714	1,337
6,332	7,716	1,476	1,649

Fígado - GLICOSE			
Grupo 4 - AlaGln (Isquemia)			
T-0	T-1	T-3	T-6
17,400	8,504	10,553	6,213
14,896	13,975	7,359	6,375
17,213	8,309	11,206	19,497
12,045	9,127	12,877	2,049
13,078	12,258	6,042	5,400
14,876	13,824	5,553	5,245

Fígado - CORPOS CETÔNICOS			
Grupo 4 - AlaGln (Isquemia)			
T-0	T-1	T-3	T-6
1,235	0,991	1,430	1,456
1,468	2,275	0,913	1,537
1,275	1,460	1,097	2,094
1,270	1,300	1,680	1,177
1,229	1,226	1,465	1,678
1,161	0,433	2,120	1,587

Fígado - ATP			
T-0	T-1	T-3	T-6
0,154	0,444	0,557	0,174
0,217	0,733	0,376	0,518
0,206	0,707	0,78	0,499
0,193	0,517	0,449	0,483
0,066	0,954	0,259	0,485
3,098	0,784	0,762	0,654

Músculo - PIRUVATO			
Grupo 4 - AlaGln (Isquemia)			
T-0	T-1	T-3	T-6
0,16	0,043	0,131	0,158
0,13	0,093	0,303	0,288
0,146	0,109	0,31	0,484
0,421	0,157	0,167	0,474
0,226	0,101	0,867	0,404
0,14	0,115	0,105	0,127

Músculo - LACTATO			
Grupo 4 - AlaGln (Isquemia)			
T-0	T-1	T-3	T-6
6,208	8,296	10,564	2,388
9,445	8,163	4,056	7,170
12,089	9,269	8,381	7,453
18,814	5,403	5,864	5,064
12,410	7,136	8,284	3,315
14,715	6,105	7,782	3,079

Músculo - GLICOSE			
Grupo 4 - AlaGln (Isquemia)			
T-0	T-1	T-3	T-6
1,254	2,960	2,267	0,037
1,554	2,394	1,547	0,847
1,061	1,813	1,766	0,854
2,334	2,605	3,957	1,405
2,000	2,398	1,517	0,658
2,092	1,923	1,162	0,986

Músculo - CORPOS CETÔNICOS			
Grupo 4 - AlaGln (Isquemia)			
T-0	T-1	T-3	T-6
1,371	3,163	3,053	2,733
1,809	1,120	1,661	4,205
1,233	2,559	3,413	3,818
1,966	0,960	1,904	2,759
1,260	2,922	6,447	3,702
1,802	3,449	5,440	3,211

Músculo - ATP			
T-0	T-1	T-3	T-6
1,371	3,163	3,053	2,733
1,809	1,120	1,661	4,205
1,233	2,559	3,413	3,818
1,966	0,960	1,904	2,759
1,260	2,922	6,447	3,702
1,802	3,449	5,440	3,211

ANEXO A

MATERIAIS E EQUIPAMENTOS UTILIZADOS

1. Drogas e soluções reagentes

- Solução salina (solução de NaCl a 0,9%)
- L - Alanil – glutamina 20% (Dipeptiven)
- Heparina (Roche – 1ml = 5000u)
- Éter dietílico
- Ácido clorídrico (HCl)
(Reagen, Rio de Janeiro – RJ, Brasil)
- Ácido perclórico 20% (HClO₄)
(Haloquímica Ind. e Com. Ltda, São Paulo – SP, Brasil)
- Cloreto de magnésio (MgCl₂ . 6H₂O)
(Grupo Química Industrial Ltda, Rio de Janeiro – RJ, Brasil)
- EDTA (ácido etilenodiaminotetraacético)
(C₁₀H₁₄N₂O₈Na₂ . 2H₂O)
- Fosfato de potássio dibásico (K₂HPO₄)
(Reagen, Rio de Janeiro – RJ, Brasil)
- Fosfato de potássio monobásico (KH₂PO₄)
(Reagen, Rio de Janeiro – RJ, Brasil)
- Hidrato de hidrazina 80% (NH₂NH₂ . H₂O)
(Reagen, Rio de Janeiro – RJ, Brasil)
- TRIS (Hidroximetil) Aminometano (C₄H₁₁NO₃)
(Reagen, Rio de Janeiro – RJ, Brasil)

2. Bioquímicos e enzimas

- Adenosina-5-triphosphato
(Boehringer Mannheim - Germany)
- Glucose-6-phosphato-dehydrogenase de Leuconostoc
mesenteroides
(Boehringer Mannheim - Germany)

- Hexoquinase
(Boehringer Mannheim - Germany)
- Hydroxybutyrate-dehydrogenase de *Rhodopseudomonas spheroides*
(Boehringer Mannheim - Germany)
- Lactate-dehydrogenase
(Boehringer Mannheim - Germany)
- NAD ($C_{21}H_{27}N_7O_{14}P_2 \cdot 3H_2O$)
(Boehringer Mannheim - Germany)

3. Aparelhagem

- Balança analítica (modelo H5, Mettler, Suíça)
- Balança para analítica (tara de 0 a 2000g, Mettler P3. USA)
- Centrífuga Eppendorf
- Espectrofotômetro (modelo DU, Beckman, Fullerton, CA, USA) com medidor de absorvância digital e outros acessórios
(Modernization System, Gilford, Oberlin, Ohio, USA)
- Medidor de pH microral (pH - metro B374)
- Estetoscópio (fluxômetro) ultrassônico - Doppler
IMBRACRIOS - EU 700 - Ind. Bras.

4. Diversos

- Cubetas para leitura ultravioleta
(American Hospital Supply Corporation - USA)
- Indicador de pH universal
(Reagen, Rio de Janeiro - RJ, Brasil)
- Nitrogênio líquido
(White Martins, São Paulo – SP, Brasil)
- Tubos de ensaio de vidro de 10ml
- Pipeta automática de 5 a 1000 microlitros
- Ponteiros descartáveis para pipeta automática
- Provetas
- Becher de 10,50 e 100ml (Pyrex)

- Gral e pistilo de porcelana
- Garrafa térmica de 3 litros para acondicionar nitrogênio líquido durante o experimento
- Pinça apreendedora (para manusear o tecido muscular juntamente com o nitrogênio líquido)
- Seringas de 3ml e agulhas 30g $\frac{1}{2}$
- Gel (Aquasonic – para uso de fluxômetro Doppler, junto ao vaso arterial)
- Material cirúrgico: pinças diversas, bisturi, tesouras, fios de sutura pinças vasculares oclusivas (tipo buldogue)
- Luvas de procedimento (Blowtex, USA)
- Gazes e algodão
- Recipiente de plástico, tipo campânula



Universidade Federal do Ceará
Comissão de Ética em Pesquisa Animal – CEPA
Rua: Coronel Nunes de Melo, 1127 Rodlfo Teófilo
Cep: 60430-970 Fortaleza-CE
Tel: (85) 288-8338 Fax (85) 288-8333

DECLARAÇÃO

Declaramos que o protocolo para uso de animais em experimentação n^o 04/04, sobre o projeto intitulado **“Efeitos da L-Alanilglutamina sobre as concentrações in vivo de metabólitos em ratos submetidos à isquemia do membro traseiro esquerdo seguido de reperusão”**, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Declaramos ainda que o referido projeto foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa Animal (CEPA) em reunião realizada em 16 de junho de 2004.

Fortaleza, 18 de junho de 2004

Prof. Dra. Gisela Costa Camarão
Coordenadora da Comissão de Ética em Pesquisa Animal - CEPA