

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

EDUARDO SÍLVIO GOUVEIA GONÇALVES

**ORNITINA ALFA-CETOGLUTARATO NA ISQUEMIA- RE-
PERFUSÃO INTESTINAL EM RATOS**

FORTALEZA
2009

EDUARDO SÍLVIO GOUVEIA GONÇALVES

**ORNITINA ALFA-CETOGLUTARATO NA ISQUEMIA-REPERFUSÃO INTESTI-
NAL EM RATOS**

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Cirurgia.

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

FORTALEZA
2009

M776a Gonçalves, Eduardo Sílvio Gouveia

Ornitina alfa-cetogluturato na isquemia-reperfusão intestinal em ratos / Eduardo Sívio Gouveia Gonçalves. – Fortaleza, 2009.

133f. : il.

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

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Cirurgia.

1. Isquemia 2. Reperfusão 3. Glutamina 4. Ornitina I. Vasconcelos, Paulo Roberto Leitão (Orient.) II. Título.

CDD: 616.342

EDUARDO SÍLVIO GOUVEIA GONÇALVES

Ornitina alfa-cetogluturato na isquemia-reperfusão intestinal em ratos

Esta dissertação foi submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Cirurgia, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Cirurgia, outorgado pela Universidade Federal do Ceará.

A citação de qualquer trecho desta é permitida, desde que seja de conformidade com as normas de ética científica.

Data da aprovação: 11/12/2009

Banca Examinadora:

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

Prof. Dr. Orlando Jorge Martins Torres
Universidade Federal do Maranhão-UFMA

Prof. Dr. Sérgio Botelho Guimaraes
Universidade Federal do Ceará-UFC

Dedico este trabalho, à minha esposa Marcília e aos meus filhos, Carolina, Eduarda e Pedro, onde busco renovação e compreensão, e recebo apoio incondicional para continuar.

*“Há homens que lutam um dia e são bons.
Há outros que lutam um ano e são melhores.
Há os que lutam muitos anos e são muito bons.
Porém, há os que lutam toda a vida.
Esses são os imprescindíveis”.*

Bertolt Brecht.

AGRADECIMENTO

A Deus, pai criador de tudo.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos, Coordenador do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará (UFC).

Ao professor Heládio Feitosa, professor de cirurgia do curso de medicina da UFC, pelo constante incentivo.

Ao professor José Ulisses Souza Melo - UFC, por contribuir revisando o nosso estudo e orientando quanto às indispensáveis correções.

Ao professor Cláudio Gleidiston Lima da Silva, coordenador do curso de medicina UFC - Campus Cariri pelo apoio e entusiasmo científico.

Ao professor André de Oliveira Porto, professor de bases da técnica cirúrgica do curso de medicina da UFC – Campus Cariri, pelo companheirismo e colaboração científica.

Ao Professor Dr. José Valmir Feitosa, estatístico da UFC – Campus Cariri, pelo grande interesse na pesquisa e fundamental participação neste estudo.

Aos estudantes de medicina, Marcelo Pinho Pessoa de Vasconcelos, Raquel Cavalcante de Vasconcelos, Alberico Ximenes do Prado Neto e Camila Menezes Rabelo que participaram com responsabilidade, técnica e dedicação na realização deste estudo.

À Sra. Maria Luciene Vieira de Oliveira e à Sra. Magda Maria Gomes Fonteneli, secretárias, pela constante atenção e dedicação aos alunos da pós graduação.

Ao Sr. Francisco Evanir Gonçalves de Lima, pela fundamental participação na preparação e execução dos testes laboratoriais.

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1	Concentração de glutathiona plasmática na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30'e I/R 30'	52
GRÁFICO 2	Concentração de glutathiona tecidual na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30'e I/R 30'	53
GRÁFICO 3	Concentração do acetoacetato plasmático na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30'e I/R 30'	54
GRÁFICO 4	Concentração do acetoacetato intestino na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30'e I/R 30'	55
GRÁFICO 5	Concentração da piruvato plasmático na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30'e I/R 30'	55
GRÁFICO 6	Concentração do piruvato tecidual na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30'e I/R 30'	56
GRÁFICO 7	Concentração da CPK plasma na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30'e I/R 30'	57
GRÁFICO 8	Concentração da LDH enzimática na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30'e I/R 30'	58
GRÁFICO 9	Concentração do lactato plasma na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30'e I/R 30'	59
GRÁFICO 10	Concentração da lactato tecidual na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30'e I/R 30'	60
GRÁFICO 11	Concentração da 3HBDH plasma na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30'e I/R 30'	60
GRÁFICO 12	Concentração de 3HBDH tecidual na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30'e I/R 30'	61
GRÁFICO 13	Concentração da mieliperoxidase tecidual na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30'e I/R 30'	62
GRÁFICO 14	Concentração do T-Bars plasmático na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30'e I/R 30'	63
GRÁFICO 15	Concentração do T-Bars tecidual na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30'e I/R 30'	64
GRÁFICO 16	Concentração da glicose plasma na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30'e I/R 30'	65
GRÁFICO 17	Concentração da glicose 6HPDH na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30'e I/R 30'	66
GRÁFICO 18	Concentração da glicose 6HPDH intestino na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30'e I/R 30'	67
GRÁFICO 19	Concentração de CPK plasmática das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'	68
GRÁFICO 20	Concentração da LDH enzimática das análises intergrupos dos grupos	68

	Sham 0', 30', 60'.....	
GRÁFICO 21	Concentração da glicose plasmática das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.....	69
GRÁFICO 22	Concentração da glicose plasmática 6HPDH das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.....	70
GRÁFICO 23	Concentração da 6HPDH tecidual das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.....	71
GRÁFICO 24	Concentração da piruvato plasmático das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.....	72
GRÁFICO 25	Concentração do piruvato tecidual das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.....	72
GRÁFICO 26	Concentração do lactato plasma das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.....	73
GRÁFICO 27	Concentração da lactato tecidual das análises intergrupo dos grupos Sham 0', 30', 60'.....	74
GRÁFICO 28	Concentração da T-Bars plasmático das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.....	74
GRÁFICO 29	Concentração da T-Bars tecidual das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.....	75
GRÁFICO 30	Concentração da glutathiona plasma das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.....	76
GRÁFICO 31	Concentração de glutathiona tecidual das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.....	76
GRÁFICO 32	Concentração do acetoacetato plasma das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.....	77
GRÁFICO 33	Concentração da acetoacetato tecidual das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.....	78
GRÁFICO 34	Concentração da 3HBDH plasma das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.....	78
GRÁFICO 35	Concentração da 3HBDH tecidual das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.....	79
GRÁFICO 36	Concentração da mieliperoxidase plasma das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.....	80
GRÁFICO 37	Concentração da glutathiona plasma das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30' OKG e CaCa.....	80
GRÁFICO 38	Concentração da glutathiona intestino das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30' OKG e CaCa	81
GRÁFICO 39	Concentração da acetoacetato plasma das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30' OKG e CaCa	82
GRÁFICO 40	Concentração do Acetoacetato intestino das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30' OKG e C.aCa	82
GRÁFICO 41	Concentração da piruvato plasmático das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30' OKG e CaCa.....	83
GRÁFICO 42	Concentração da piruvato tecidual das análises intersubgrupos do gru-	84

	po Sham 30' e Isq 30'OKG e CaCa	
GRÁFICO 43	Concentração da CPK plasma das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30'OKG e CaCa	84
GRÁFICO 44	Concentração da LDH das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30'OKG e CaCa	85
GRÁFICO 45	Valores médios da concentração do lactato plasma das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30'OKG e CaCa	86
GRÁFICO 46	Concentração da lactato intestino das análises intersubgrupos do grupo sham 30' e Isq 30'OKG e CaCa	86
GRÁFICO 47	Concentração da 3HBDH plasma das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30'OKG e CaCa	87
GRÁFICO 48	Concentração da 3HBDH intestino das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30'OKG e CaCa	87
GRÁFICO 49	Concentração da mieliperoxidase plasma das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30' OKG e CaCa	88
GRÁFICO 50	Concentração da T-Bars plasmática das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30'OKG e CaCa	89
GRÁFICO 51	Concentração da T-Bars tecidual das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30' OKG e CaCa	89
GRÁFICO 52	Concentração de glicose enzimática das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30'OKG e CaCa	90
GRÁFICO 53	Concentração da glicose plasma 6HPDH das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30'OKG e CaCa	91
GRÁFICO 54	Concentração de glicose intestino 6HPDH das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30'OKG e CaCa	91
GRÁFICO 55	Concentração da glutationa plasma das análises intersubgrupos do grupo Sham 60' e I/R 30'OKG e CaCa	92
GRÁFICO 56	Concentração da glutationa intestino das análises intersubgrupos do grupo Sham 60' e I/R 30'OKG e CaCa	93
GRÁFICO 57	Concentração do acetoacetato plasmático das análises intersubgrupos do grupo Sham 60' e I/R 30'OKG e CaCa	93
GRÁFICO 58	Concentração da acetoacetato intestino das análises intersubgrupos do grupo Sham 60' e I/R 30'OKG e CaCa	94
GRÁFICO 59	Concentração da piruvato plasma . das análises intersubgrupos do grupo Sham 60' e R 30'OKG e CaCa	95
GRÁFICO 60	Concentração da piruvato tecidual das análises intersubgrupos do grupo Sham 60' e I/R 30'OKG e CaCa	95
GRÁFICO 61	Concentração da CPK plasma das análises intersubgrupos do grupo Sham 60' e I/R 30OKG e CaCa	96
GRÁFICO 62	Concentração da LDH enzimatica das análises intersubgrupos do grupo Sham 60' e I/R 30'OKG e CaCa	96
GRÁFICO 63	Concentração do lactato plasma das análises intersubgrupos do grupo Sham 60' e I/R 30'OKG e CaCa	97

GRÁFICO 64	Concentração da lactato tecidual das análises intersubgrupos do grupo Sham 60' e I/R 30'OKG e CaCa	98
GRÁFICO 65	Concentração da 3HBDH plasma das análises intersubgrupos do grupo Sham 60' e I/R 30'OKG e CaCa	98
GRÁFICO 66	Concentração da 3HBDH intestino das análises intersubgrupos do grupo Sham 60' e I/R 30'OKG e CaCa	99
GRÁFICO 67	Concentração da mieliperoxidase plasmática das análises intersubgrupos do grupo Sham 60' e I/R 30'OKG e CaCa	100
GRÁFICO 68	Concentração da T-Bars plasmática das análises intersubgrupos do grupo Sham 60' e I/R 30'OKG e CaCa	100
GRÁFICO 69	Concentração da T-Bars intestino das análises intersubgrupos do grupo Sham 60' e I/R 30'OKG e CaCa	101
GRÁFICO 70	Concentração da glicose enzimática das análises intersubgrupos do grupo Sham 60' e I/R 30'OKG e CaCa	102
GRÁFICO 71	Concentração da glicose plasma 6HPDH das análises intersubgrupos do grupo Sham 60' e I/R 30'OKG e CaCa	102
GRÁFICO 72	Concentração da glicose 6HPDH intestino das análises intersubgrupos do grupo Sham 60' e I/R 30'OKG e CaCa	103

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Concentração de glutathiona plasmática na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq e I/R 30'.....	51
TABELA 2	Concentração de glutathiona tecidual na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Is e I/R 30'.....	52
TABELA 3	Concentração do acetoacetato plasmático na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq e I/R 30'.....	53
TABELA 4	Concentração do acetoacetato intestino na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', isq e I/R 30'.....	54
TABELA 5	Concentração da piruvato plasmático na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq e I/R 30'.....	55
TABELA 6	Concentração do piruvato tecidual na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq e I/R 30'.....	56
TABELA 7	Concentração da CPK plasma na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq e I/R 30'.....	57
TABELA 8	Concentração da LDH enzimática na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq e I/R 30'.....	58
TABELA 9	Concentração do lactato plasma na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq e I/R 30'.....	59
TABELA 10	Concentração do lactato tecidual na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq e I/R 30'.....	59
TABELA 11	Concentração da 3HBDH plasma na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq e I/R 30'.....	60
TABELA 12	Concentração de 3HBDH tecidual na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq e I/R 30'.....	61
TABELA 13	Concentração da mieliperoxidase tecidual na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq e I/R 30'.....	62
TABELA 14	Concentração do T-Bars plasmático na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq e I/R 30'.....	63
TABELA 15	Concentração do T-Bars tecidual na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq e I/R 30'.....	63
TABELA 16	Concentração da glicose plasma na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq e I/R.....	64
TABELA 17	Concentração da glicose 6HPDH na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq, I/R 30'.....	65
TABELA 18	Concentração da glicose 6HPDH intestino na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq e I/R. 30'.....	66
TABELA 19	Concentração de CPK plasmática ($\mu\text{mol/mL}$) das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.....	67
TABELA 20	Concentração da LDH enzimática (UI/L) das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.....	68
TABELA 21	Concentração da glicose plasmática ($\mu\text{mol/mL}$) das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.....	69

TABELA 22	Concentração da glicose plasmática 6HPDH ($\mu\text{mol/mL}$) das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.....	70
TABELA 23	Concentração da 6HPDH tecidual ($\mu\text{mol/mL}$) das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.....	70
TABELA 24	Concentração da piruvato plasmático ($\mu\text{mol/mL}$) das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.....	71
TABELA 25	Concentração do piruvato tecidual ($\mu\text{mol/g}$) das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.....	72
TABELA 26	Concentração do lactato plasma ($\mu\text{mol/ml}$) das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.....	73
TABELA 27	Concentração da lactato tecidual ($\mu\text{mol/g}$) das análises intergrupo dos grupos Sham 0', 30', 60'.....	73
TABELA 28	Concentração da T-Bars plasmático ($\mu\text{mol/mL}$) das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.....	74
TABELA 29	Concentração da T-Bars tecidual ($\mu\text{mol/g}$) das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.....	75
TABELA 30	Concentração da glutaciona plasma ($\mu\text{mol/mL}$) das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.....	75
TABELA 31	Concentração de glutaciona tecidual ($\mu\text{mol/mL}$) das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.....	76
TABELA 32	Concentração do acetoacetato plasma ($\mu\text{mol/ml}$) das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.....	77
TABELA 33	Concentração da acetoacetato tecidual ($\mu\text{mol/g}$) das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.....	77
TABELA 34	Concentração da 3HBDH plasma ($\mu\text{mol/m}$) das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.....	78
TABELA 35	Concentração da 3HBDH tecidual ($\mu\text{mol/g}$) das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.....	79
TABELA 36	Concentração da mieliperoxidase plasma ($\mu\text{mol/ml}$) das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.....	79
TABELA 37	Concentração da glutaciona plasma ($\mu\text{mol/ml}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30'OKG e CaCa.....	80
TABELA 38	Concentração da glutaciona intestino ($\mu\text{mol/g}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30'OKG e CaCa.....	81
TABELA 39	Concentração da acetoacetato plasma ($\mu\text{mol/ml}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30'OKG e CaCa.....	81
TABELA 40	Concentração do Acetoacetato intestino ($\mu\text{mol/g}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30'OKG e CaCa.....	82
TABELA 41	Concentração da piruvato plasmático ($\mu\text{mol/ml}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30'OKG e CaCa.....	83
TABELA 42	Concentração da piruvato tecidual ($\mu\text{mol/g}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30'OKG e CaCa.....	83
TABELA 43	Concentração da CPK plasma (ui/l) das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30'OKG e CaCa.....	84

TABELA 44	Concentração da LDH (ui/l) das análises intersubgrupos e Isq 30'OKG e CaCa.....	85
TABELA 45	Concentração do lactato plasma ($\mu\text{mol/ml}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30'OKG e CaCa.....	86
TABELA 46	Concentração da lactato intestino ($\mu\text{mol/g}$) das análises intersubgrupos do grupo sham 30' e Isq 30'OKG e CaCa.....	86
TABELA 47	Concentração da 3HBDH plasma ($\mu\text{mol/m}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30'OKG e CaCa.....	87
TABELA 48	Concentração da 3HBDH intestino ($\mu\text{mol/g}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30'OKG e CaCa.....	87
TABELA 49	Concentração da mieliperoxidase plasma ($\mu\text{mol/ml}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30'OKG e CaCa.....	88
TABELA 50	Concentração da T-Bars plasmática ($\mu\text{mol/mL}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30'OKG e CaCa.....	88
TABELA 51	Concentração da T-Bars tecidual ($\mu\text{mol/g}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30'OKG e CaCa.....	89
TABELA 52	Concentração de glicose enzimática ($\mu\text{mol/mL}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30'OKG e CaCa.....	90
TABELA 53	Concentração da glicose plasma 6HPDH ($\mu\text{mol/ml}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30'OKG e CaCa.....	91
TABELA 54	Concentração de glicose intestino 6HPDH ($\mu\text{mol/g}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30'OKG e CaCa.....	91
TABELA 55	Concentração da glutationa plasma ($\mu\text{mol/mL}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 60' e R 30'OKG e CaCa.....	92
TABELA 56	Concentração da glutationa intestino ($\mu\text{mol/g}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 60' e R 30'OKG e CaCa.....	93
TABELA 57	Concentração do acetoacetato plasmático ($\mu\text{mol/ml}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 60' e R 30'OKG e CaCa.....	93
TABELA 58	Concentração da acetoacetato intestino ($\mu\text{mol/g}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 60' e R 30'OKG e CaCa.....	94
TABELA 59	Concentração da piruvato plasma ($\mu\text{mol/ml}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 60' e R 30'OKG e CaCa.....	94
TABELA 60	Concentração da piruvato tecidual ($\mu\text{mol/g}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 60' e R 30'OKG e CaCa.....	95
TABELA 61	Concentração da CPK plasma (ui/l) das análises intersubgrupos do grupo Sham 60' e R 30'OKG e CaCa.....	96
TABELA 62	Concentração da LDH enzimatica (ui/l) das análises intersubgrupos do grupo Sham 60' e R 30'OKG e CaCa.....	96
TABELA 63	Concentração do lactato plasma ($\mu\text{mol/mL}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 60' e R 30'OKG e CaCa.....	97
TABELA 64	Concentração da lactato tecidual ($\mu\text{mol/g}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 60' e R 30'OKG e CaCa.....	97
TABELA 65	Concentração da 3HBDH plasma ($\mu\text{mol/ml}$) das análises intersub-	

	grupos do grupo Sham 60' e R 30'OKG e CaCa.....	98
TABELA 66	Concentração da 3HBDH intestino ($\mu\text{mol/g}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 60' e R 30'OKG e CaCa.....	99
TABELA 67	Concentração da mieliperoxidase plasmática ($\mu\text{mol/ml}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 60' e R 30'OKG e CaCa.....	99
TABELA 68	Concentração da T-Bars plasmática ($\mu\text{mol/ml}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 60' e R 30'OKG e CaCa.....	100
TABELA 69	Concentração da T-Bars intestino ($\mu\text{mol/g}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 60' e R 30'OKG e CaCa.....	101
TABELA 70	Concentração da glicose enzimática ($\mu\text{mol/ml}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 60' e R 30'OKG e CaCa.....	102
TABELA 71	Concentração da glicose plasma 6HPDH ($\mu\text{mol/mL}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 60' e R 30'OKG e CaCa.....	102
TABELA 72	Concentração da glicose 6HPDH intestino ($\mu\text{mol/g}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 60' e R 30'OKG e CaCa.....	103

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

ADN	Ácido desoxirribonucléico
ADP	Adenosina difosfatada
ARN	Ácido ribonucléico
ATP	Adenosina difosfatada
CPK	Creatina fosfoquinase
GS	Glutationa reduzida
GS	Glutationa reduzida com radical livre
GSH	Glutationa
GSSG	Glutationa oxidada
LDH	Desidrogenase láctica
LE	Laparotomia exploradora
OAA	Oclusão
OKG	Ornitina α -cetogluturato
UFC	Universidade Federal do Ceará

RESUMO

Universidade Federal do Ceará – Dissertação de Mestrado em Cirurgia

ORNITINA ALFA-CETOGLUTARATO NA ISQUEMIA-REPERFUSÃO INTESTINAL EM RATOS.

Autor: Eduardo Sílvio Gouveia Gonçalves. Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos

Objetivo: Avaliar os efeitos da ornitina α -cetoglutarato (OKG) no sangue e tecido intestinal de ratos submetidos à isquemia/reperfusão intestinal através da determinação das concentrações *in vivo* no sangue e no tecido do intestino delgado, submetido a isquemia/reperfusão, de glicose, G 6 PDH, piruvato, acetoacetato, lactato, 3 HBDH, glutatona, T-Bars, mieloperoxidase, CPK e LDH. **Método:** Sessenta ratos (*Rattus norvegicus albinus*, Rodentia Mammalia) foram distribuídos aleatoriamente em cinco grupos de 12 animais: Sham 0' (s0'), Sham 30' (s30'), Sham 60' (s60'), Isquemia (i30'), Reperfusão (r30'). Estes grupos foram distribuídos em subgrupos de acordo com o tempo e com o composto utilizado na gavagem. Todos os animais receberam gavagem de caseinato de cálcio ou OKG em dose única, trinta minutos antes da laparotomia exploradora (LE). Os subgrupos s0'CaCa s30'CaCa, s60'c, i30'CaCa e r30'CaCa receberam apenas caseinato, de cálcio. Os subgrupos s0'OKG, s30'OKG, s60'OKG, i30'OKG e r30'OKG receberam OKG na dose de 5g/kg de peso. As amostras foram colhidas em cinco momentos: imediatamente após a LE; após 30 minutos da LE; Após 1h da LE; Após 30 minutos de isquemia; Após 30 minutos de reperfusão. A estatística descritiva foi expressa através da média, erro e desvio padrão, acompanhando-se pelo intervalo de confiança da média a 95%. Para comparar os valores pré e pós-procedimentos nas concentrações das variáveis estudadas foram empregados os teste "t" de Student pareado (para variância homogênea e heterogênea) e ANOVA após análise de normalidade através do teste Kolmogorov-Smirnov. Quando observou a não normalidade aplicou-se o teste de Kruskal-Wallis. **Resultados:** Os resultados apontaram um aumento significativo na lactacemia ($1.186 \pm 0,18$ versus $0,794 \pm 0,06$, $p < 0,01$) nos animais que receberam OKG em relação ao controle nos subgrupos isquemia trinta minutos (i30'). No tecido intestinal reperfundido (r30') ocorreu redução significativa da concentração de lactato ($0,107 \pm 0,01$ versus $0,266 \pm 0,02$, $p < 0,05$) nos animais recipientes de OKG em relação ao animais controle. O piruvato plasmático e tecidual se mostrou significativamente reduzido ($0,146 \pm 0,24$ versus $0,156 \pm 0,17$ e $0,094 \pm 0,02$ versus $0,248 \pm 0,03$, $p < 0,05$) após o período de reperfusão de trinta minutos nos animais recipientes da OKG em relação aos animais controle. Houve redução significativa da concentração do acetoacetato no tecido intestinal nos tempos pós isquemia e pós reperfusão dos animais recipientes da OKG ($0,57 \pm 0,01$ versus $0,0685 \pm 0,01$ e $0,128 \pm 0,04$ versus $0,156 \pm 0,03$, $*p < 0,05$) quando comparados aos animais não tratados. A glicose 6 PDH apresentou redução significativa da sua concentração plasmática no tempo isquemia trinta minutos dos animais recipientes da OKG em relação aos não tratados ($0,1442 \pm 0,048$ versus $1,1098 \pm 0,0796$, $*p < 0,05$), ocorrendo o mesmo na concentração tecidual, no pós isquemia ($0,1002 \pm 0,02$ versus $0,147 \pm 0,0264$, $p < 0,05$). A LDH apresentou elevação significativa da sua concentração nos animais recipientes da OKG em relação ao controle ($278,01 \pm 51,52$ versus $132,93 \pm 12,54$, $*p < 0,05$) no grupo isquemia (i30'). Ocorreu redução significativa da CPK no grupo reperfusão (r30') dos animais recipientes da OKG em comparação aos animais controle ($115,13 \pm 11,77$ versus $166,70 \pm 6,23$, $p < 0,05$). A glutatona tecidual apresentou elevação significativa no sham OKG 30 minutos em relação ao animais controle ($59,17 \pm 2,39$ versus $25,09 \pm 1,53$, $p < 0,05$) e redução significante no tempo isquemia, tanto nos animais OKG quanto CaCa. Durante o período de reperfusão a glutatona não apresentou alterações significativas entre os animais tratados e controle. A OKG influenciou de maneira significativa na redução da concentração da 3HDBH tecidual no tempo i30' ($0,062 \pm 0,01$ versus $0,075 \pm 0,02$, $p < 0,01$) Esta diferença significativa foi mantida no sangue dos animais tratados no grupo reperfusão 30'OKG em relação aos animais r30'CaCa ($0,03 \pm 0,00$ versus $0,0615 \pm 0,01$, $p < 0,01$). A T-bars tecidual apresentou redução significante no grupo r30'OKG em comparação ao r30'CaCa ($0,0522 \pm 0,03$ versus $0,0745 \pm 0,02$, $p < 0,05$), com elevação significativa no grupo sham 60'CaCa em relação aos animais tratados $0,0937 \pm 0,02$ versus $0,020 \pm 0,01$, $p < 0,01$). A oferta exógena da alfa-cetoglutarato não ocasionou nenhuma alteração significante nas concentrações de glicose e mieloperoxidase (MPO) entre os animais do subgrupo experimento quando comparados aos do subgrupo controle. **Conclusões:** Os procedimentos realizados foram suficientes para desencadear alterações significativas em alguns metabólitos estudados. O modelo de isquemia-reperfusão demonstrou efetividade. A oferta exógena OKG, em dose única por gavagem, sugere aumento na atividade pró-glicolíticas aeróbica a nível tecidual e sistêmico; proteção contra lesão celular do tecido intestinal, e efeito antioxidante tecidual e sistêmico durante a lesão de isquemia e após a lesão de reperfusão.

Palavras-chave: Isquemia. Reperfusão. Glutamina. Ornitina. Cetoglutarato. Rato. Intestino Delgado.

ABSTRACT

Universidade Federal do Ceará – Surgery Dissertation

Ornithine alpha-ketoglutarate in intestinal ischemia-reperfusion in rats. Autor: Eduardo Sílvia Gouveia Gonçalves. Orientador: Prof.Dr.Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos

Objective: To evaluate the effect of ornithine alpha-ketoglutarate (OKG) in the blood and intestinal tissue of rats submitted to intestinal ischemia/reperfusion, using the blood concentrations of glucose, G6PDH, pyruvate, acetoacetate, lactate, 3HBDH, glutathione, T-Bars, myeloperoxidase, CPK and LDH, evaluated *in vivo* on these tissues. **Methods:** Sixty rats (*Rattus norvegicus albinus*, Rodentia Mammalia) were selected and aleatorily distributed in five groups of twelve animals, which were: Sham0'(s0'), Sham30'(s30'), Sham60'(s60'), Isquemia(i30'), Reperusão(r30'). These groups were distributed in subgroups according to the time and the compost used to the "gavagem". All de animals received the "gavagem" with calcium caseinate or okg, only one dosage, thirty minutes before the exploratory laparotomy (EL). The subgroups s0'Ca, s30'Ca, s60'Ca, i30'Ca and r30'Ca received only calcium caseinate. The subgroups s0'okg, s30'okg, s60'okg, i30'okg and r30'okg received 5g of okg *par* each kilogram. The samples were taken in five moments: immediately passed the EL; passed 30 minutes of the EL; passed 60 minutes of the EL; passed 30 minutes of the isquemia; passed 30 minutes of the reperfusion. The descriptive statistics were media, error and standard deviation. The values before and after the procedures were compared using the "t" test ("Student pareado" to homogeny and heterogeny variation) and ANOVA. Then, it was used Kolmogorov-Smirnov to compare the normal results. The results were not normal, it was used the Kruskal-Wallis test. **Results:** It was shown an improvement on the blood lactate($1.186 \pm 0,18$ versus $0,794 \pm 0,06$, $p < 0,01$) to the animals that received okg from i30'. A reduction on blood lactate lactato ($0,107 \pm 0,01$ versus $0,266 \pm 0,02$, $p < 0,05$) was noticed in the group r30' that received okg. It occurred a reduction on plasmatic and tissue pyruvate reduzido ($0,146 \pm 0,24$ versus $0,156 \pm 0,17$ and $0,094 \pm 0,02$ versus $0,248 \pm 0,03$, $p < 0,05$) to the group r30' that received okg. The acetoacetate was reduced to both groups, isquemia and reperfusion, that received okg($0,57 \pm 0,01$ versus $0,0685 \pm 0,01$ e $0,128 \pm 0,04$ versus $0,156 \pm 0,03$, $*p < 0,05$). The plasmatic glucose was reduced to the group i30'($0,1442 \pm 0,048$ versus $1,1098 \pm 0,0796$, $*p < 0,05$) treated with okg and the same happened to the tissue glucose after isquemia ($0,1002 \pm 0,02$ versus $0,147 \pm 0,0264$, $p < 0,05$). The LDH had an improvement ($0,1002 \pm 0,02$ versus $0,147 \pm 0,0264$, $p < 0,05$) to the group i30' treated with okg. CPK was reduced ($115,13 \pm 11,77$ versus $166,70 \pm 6,23$, $p < 0,05$) to the group r30' treated with okg. The tissue glutathione had an improvement to sham okg 30' ($59,17 \pm 2,39$ versus $25,09 \pm 1,53$, $p < 0,05$) and a reduction on isquemia period to the animals treated with okg and CaCa. 3HBDH was reduced ($0,062 \pm 0,01$ versus $0,075 \pm 0,02$, $p < 0,01$) in the blood and in the tissues from i30'. This difference was kept to animals' blood from r30'okg when related to r30'CaCa($0,03 \pm 0,00$ versus $0,0615 \pm 0,01$, $p < 0,01$). There was a reduction on tissue T-BARS to r30'OKG when compared to r30'CaCa($0,0522 \pm 0,03$ versus $0,0745 \pm 0,02$, $p < 0,05$) and an improvement to sham60'CaCa($0,0937 \pm 0,02$ versus $0,020 \pm 0,01$, $p < 0,01$). Glicose and Myeloperoxidase were not affected by the use of okg. All the results were compared to the respective control groups. **Conclusion:** The used procedures could bring useful results to metabolites in study. The isquemia/reperfusion showed efficiency, offering exogen okg leads to a rising on glicolitic and aerobic activity to tissues and systems. This offer protects yet from the tissue injury and has antioxidant effect during the isquemia/reperfusion injury.

Key words: Ischemia, reperfusion, alpha-ketoglutarate, ornitin, rats intestine.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	18
1.1	Isquemia reperfusão e radicais livres de oxigênio.....	21
1.2	A glutamina.....	24
1.3	Ornitina alfa-cetoglutarato (OKG).....	30
2	OBJETIVO.....	36
2.1	Objetivo geral.....	36
3	MÉTODO.....	37
3.1	Tipo de estudo.....	37
3.2	Local.....	37
3.3	Amostra.....	37
3.4	Delineamento experimental.....	37
3.5	Cronogramas de procedimento cirúrgico por grupos.....	39
3.5.1	Grupo Sham (s0').....	39
3.5.2	Grupo Sham 30' - s30'CaCa e s30'OKG.....	39
3.5.3	Sham 60' – s60'OKG e s60'CaCa.....	40
3.5.4	Grupo isquemia – i30'OKG e i30'CaCa.....	40
3.5.5	Grupo reperfusão – r30'OKG e r30'CaCa.....	40
3.6	Descrição do cronograma.....	40
3.7	Processo de coleta.....	41
3.8	Modelo experimental do procedimento cirúrgico.....	41
3.8.1	Pré-operatório.....	41
3.8.2	Randomização.....	41
3.8.3	Anestesia.....	41
3.8.4	Procedimento cirúrgico.....	42
3.8.5	Laparotomia exploradora.....	42
3.9	Análises laboratoriais.....	42
3.9.1	Tratamento das amostras de tecido e sangue.....	43
3.9.2	Princípio básico da análise enzimática.....	43
3.9.3	Determinação da D-Glicose.....	44
3.9.4	Dosagem da creatina fosfoquinase.....	45
3.9.5	Dosagem da desidrogenase láctica.....	45
3.9.6	Dosagem da concentração das Substâncias Reagentes do Ácido Tiobarbitúrico (TBARS).....	46
3.9.7	Dosagem da concentração de glutathiona.....	46
3.9.8	Dosagem da concentração de lactato.....	47
3.9.9	Dosagem da concentração de piruvato.....	48
3.9.10	Dosagem da concentração de T-BARS.....	48

3.9.11	Dosagem da concentração da mieloperoxidase.....	49
3.9.12	Dosagem da 3HBDH.....	49
3.10	Análise Estatística.....	50
4	RESULTADOS.....	51
4.1	Efeitos do procedimento cirúrgico sobre os parâmetros do grupo Sham 0', 30', 60' OKG e CaCa das análises intragrupos.....	51
4.2	Efeitos do procedimento cirúrgico sobre os parâmetros do grupo Sham 0', 30', 60' OKG e CaCa das análises intergrupos.....	67
4.3	Efeitos do procedimento cirúrgico sobre os parâmetros do grupo Sham 30' isquemia trinta minutos OKG e CaCa das análises intersubgrupos.....	80
4.4	Efeitos do procedimento cirúrgico sobre os parâmetros do grupo Sham 60' e reperfusão trinta minutos OKG e CaCa das análises intersubgrupos.....	92
5	DISCUSSÃO.....	104
5.1	Avaliação das concentrações de metabólitos no plasma e tecido intestinal no grupo Sham 0', 30', 60', 130' e 180' OKG e CaCa.....	107
6	CONCLUSÕES.....	116
	REFERÊNCIAS.....	117
	APÊNDICE A.....	125
	ANEXOS.....	126

1 INTRODUÇÃO

Evidências apresentadas em diversos estudos apontam para as conclusões de que o intestino não é um órgão indiferente. Funções relevantes como da digestão e absorção de nutrientes, controle metabólico através da fabricação de incretinas, a família de hormônio capaz de potencializar a ação da insulina, além de função imunológica importante, têm sido descritas com frequência cada vez maior (PORIES, 1992; KLIMBERG et al., 1998).

No final do século XV foi relatado por Benivieni o primeiro caso de oclusão da artéria mesentérica. Desde então, os avanços no diagnóstico e tratamento desta afecção aumentaram significativamente (BOLEY; BRANDT; SAMMARTANO, 1997). O primeiro caso tratado de forma bem sucedida foi descrito por Elliot (1895). Segundo o autor, foi realizada a ressecção do segmento intestinal gangrenado exteriorizando os cotos intestinais na forma de estomas, tratamento este até hoje muitas vezes empregado (PATERNO; LONGO, 2008).

Em 1951, foram introduzidos os conceitos de que seria necessário restabelecer o fluxo sanguíneo para o intestino isquêmico, mas viável, bem como a importância de se realizar o diagnóstico antes que a necrose estivesse estabelecida. Diante dos avanços no tratamento da isquemia, surgiu então, a angiografia. Este modelo de tratamento foi descrito primeiramente por Aakhus (1966). Porém, a partir de 1973 passou a ser utilizada para o tratamento dos casos de isquemia arterial não-oclusiva pela injeção de substâncias vasodilatadoras. As repercussões da isquemia estão associadas a alterações morfológicas e funcionais resultantes da necrose tecidual. As alterações provocadas pela falta de aporte sanguíneo desencadeiam processos metabólicos celulares e moleculares que induzem a célula a sua autodestruição sem a característica reação inflamatória, fenômeno conhecido como apoptose (TOLDY et al., 2008).

Conforme o estudo de Parks e Granger (1986), apesar dos grandes avanços, a taxa de mortalidade permaneceu elevada. Os mesmos demonstraram ser a reperfusão muito mais lesiva aos tecidos do que a isquemia isoladamente. Os mesmos autores promoviam isquemia mantendo o fluxo em 20% do normal durante 3 horas e reperfundiam por 1 hora. Descreveram que as lesões encontradas ao final eram mais graves do que aquelas vistas após 4 horas de isquemia. Justificaram que as lesões iniciadas pela reperfusão envolvem a formação de oxidantes citotóxicos derivados do oxigênio molecular. Nessas condições, o afluxo de sangue oxigenado aos tecidos previamente desprovidos de oxigênio é fundamental para o reinício do metabolismo aeróbico (TARDINI; YOSHIDA, 2003).

Ainda ressaltaram que a taxa de incidência da isquemia intestinal tem aumentado nas últimas décadas, não somente pelo crescimento da população idosa, mas também pela precisão diagnóstica, por meio da tecnologia atual (PARKS; GRANGER, 1986).

Os animais apresentam peculiaridades fisiológicas características a cada espécie. Tomando como exemplo a temperatura corpórea, na maioria dos mamíferos ela se encontra entre 38 e 39°C. Já a frequência cardíaca varia desde 70 batimentos por minuto, no porco, e 80, no cão, até acima de 400, no rato e camundongo, passando pelo gato, com 120, e coelho, com 200 batimentos por minuto. O abdome dos mamíferos é, no geral, parecido com o humano, mas o fígado apresenta morfologia lobular diferente e o baço é proporcionalmente maior e mais móvel do que o humano, na maioria das espécies. No rato, o estômago é dividido em duas partes (pré-estômago e estômago), o apêndice cecal é muito maior do que o ceco e a vesícula biliar é quase inexistente e a circulação arterial e venosa intestinal se aproxima do humano (BELLENGER, 1993).

Diante de tantas variações morfológicas, pode-se esperar que as diferenças fisiológicas sejam ainda mais complexas entre os animais e em relação ao homem. Contudo, a maioria das pesquisas realizadas com os animais adequados, resultam em informações próximas das que podem ser esperadas no homem. Existem subsídios na literatura para a escolha do melhor modelo animal. Dessa forma, o camundongo se presta mais às práticas de choque, sepse, queimaduras, obesidade, megacólon e câncer. Como já foi mencionado, o rato é o animal mais utilizado nas práticas científicas, porém ele é mais apropriado para trabalhos envolvendo choque, sepse, obesidade, peritonite, câncer, úlceras gástricas, operações intestinais, estudos do sistema mononuclear fagocitário, baço, cicatrização e transplantes de órgãos (COHEN, 1986; BALLS, 1994).

Um modelo animal deverá atender aos pressupostos que permita um pertinente estudo dos fenômenos biológicos, adequada investigação dos processos patológicos espontâneos ou induzidos, e por fim, que o fenômeno em um ou mais aspectos, seja semelhante ao fenômeno em seres humanos (RUSSEL, 2001).

O rato foi o animal mais frequentemente usado, porque apresenta facilidade de trabalho, adequabilidade ao protocolo e disponibilidade. A constituição anatômica visceral do rato é bastante similar à do homem, o que permite extrapolar, em certa medida, muitos dos conhecimentos adquiridos para o homem. Além disso, é um animal resistente à anestesia tanto ina-

latória quanto intravenosa, apresenta porte pequeno, de fácil manuseio cirúrgico para abordagem das artérias e, ainda, baixo custo. Essas características favorecem o agrupamento de maior número de indivíduos, facilitando a avaliação estatística. Em contrapartida, o gato, o porco e o cão, por serem de maior porte, necessitam de técnica cirúrgica mais aprimorada, maior tempo cirúrgico e custo, restringindo o número de indivíduos por grupo estudado. (PARKS; GRANGER, 1986; MONTGOMERY; BORGESTROM; HAGLUND, 1992; HARWARD et al., 1994).

Vários métodos podem ser utilizados para obter-se a isquemia: obstrução arterial por meio de pinçamento vascular, choque hipovolêmico, hipotermia e fitas cirúrgicas para liberação programada de fluxo sanguíneo. Um estudo de revisão da literatura mostrou que a preferência dos pesquisadores é pelo pinçamento vascular, seguindo-se de estenose ou compressão vascular extrínseca (RIBEIRO; YOSHIDA, 2005).

Kuzu et al. (2000) estudaram os efeitos da isquemia-reperusão sobre a cicatrização de anastomose colônica em ratos e concluíram que a obstrução arterial de importantes artérias, com restauração do fluxo sanguíneo produz alterações significativas na cicatrização intestinal. Varias linhas de pesquisa mostraram que o rato foi o animal mais viável para simulação desses processos patológicos. (FAGUNDES; PLAPLER; GOLDENBERG, 1991).

A isquemia é uma condição de interrupção no suprimento de oxigênio e nutrientes para uma determinada área, durante um período, devido a uma deficiência de fornecimento de sangue, o que pode acarretar a morte tecidual (PINHEIRO, 1995). Recentemente, surgiram evidências de que a lesão dos tecidos não estaria somente limitada à isquemia, podendo se estender ou agravar com a reperusão (PINHEIRO et al., 1999). Parks e Granger (1986) demonstraram que três horas de isquemia seguidas por uma hora de reperusão determinavam maior lesão na mucosa intestinal do que quatro horas de exclusiva isquemia. Em relação à isquemia intestinal, não faz muito tempo, o tratamento restringia-se a ressecções intestinais associadas ou não a embolectomias (MARCUSON; STEWART; MARSTON, 1972).

Tais procedimentos continuam sendo justificáveis em situações nas quais não mais é possível realizar a reperusão, como na gangrena intestinal, por ser esta lesão irreversível (KEIGHLEY, 1998). Entretanto, em muitas situações há lugar para um tratamento que bloqueie a seqüência de eventos do processo de isquemia e reperusão, de modo a inibir ou minimizar seus efeitos danosos aos tecidos (ANADOL et al., 1998). Há também situações em

que o tratamento operatório se impõe, porém, isoladamente, é insuficiente para a completa resolução da afecção, visto que a reperfusão mesentérica traz danos teciduais e sistêmicos que devem ser evitados (BRANDT; BOLEY, 1992).

A isquemia intestinal, em humanos, é considerada uma doença que ocorre na ausência ou diminuição do fluxo sanguíneo arterial, venoso ou da microcirculação intestinal, por obstrução aguda ou crônica das artérias e/ou veias viscerais, notadamente do tronco celíaco, da artéria mesentérica superior, da artéria mesentérica inferior, ou obstruções combinadas afetando as várias artérias, com consequências que podem ser catastróficas, incluindo sepse, necrose intestinal e morte (KEIGHLEY, 1998; SIMI, 2002).

Contudo é visto que a intensidade da isquemia dependerá do nível da oclusão, da circulação colateral, bem como do grau de demanda de oxigênio dos tecidos envolvidos. Nesse sentido, o tempo de isquemia é um fator crucial na determinação da intensidade das lesões e na viabilidade do órgão (DORMANDY et al., 1999; MAFFEI et al., 2002).

No referente ao conhecimento da seqüência de eventos que levam à lesão tecidual em decorrência da produção dos radicais livres, acredita-se que haja novas formas de prevenção atuando, especialmente, em algum nível da reação em cadeia do processo de isquemia e reperfusão. Desse modo, contribuindo para inibir o processo de injúria tecidual. Portanto, têm sido testadas inúmeras substâncias com o objetivo de prevenir ou minimizar as lesões de isquemia e reperfusão mesentérica.

1.1 Isquemia reperfusão e radicais livres de oxigênio

A isquemia é um evento comum que pode ocorrer em algumas condições clínicas, como trauma, cirurgia do coração, transplante de fígado, de intestino, dentre outros. A isquemia e a reperfusão intestinal (I/R) resultam em importantes e graves complicações intestinais: edema intersticial, ruptura da estrutura da mucosa, além de produzir alteração sistêmica, não apenas nos locais acometidos pelo fenômeno, de forma que o restabelecimento do fluxo sanguíneo para uma área isquêmica pode ocasionar lesão em todo organismo (PINHEIRO et al., 1999). Na tentativa de impedir estas alterações, pesquisadores chineses forneceram para ratos suplementação de glutamina na nutrição parenteral (NP). A experiência demonstrou que a glutamina protegeu a morfologia e a função da mucosa intestinal de danos pós-isquemia e reperfusão.

A respiração aeróbica celular é o primeiro processo metabólico a ser alcançado pela hipóxia. Sabe-se que as conseqüências da isquemia em diferentes tecidos, dependem de sua duração e que muitas das lesões são desenvolvidas durante o estágio de reoxigenação decorrente da reperfusão. As mitocôndrias são alvos importantes dos danos provocados pelos processos de isquemia e reperfusão. Nelas ocorre a diminuição das atividades da nicotinamida adenina dinucleotídeo ligada com hidrogênio (NADH) desidrogenase, do carreador de adenosina difosfato/adenosina trifosfato (ADP/ATP), da ATP sintetase, aumento da atividade da fosfolipase A2, e acentuado acúmulo de cálcio e aumento da geração de radicais livres. A associação destes eventos pode ser responsável pelas lesões e morte celular, decorrentes da reperfusão, possivelmente por um fenômeno de transição de permeabilidade da membrana mitocondrial interna (YASSIN, 1997).

A membrana celular, por seu elevado conteúdo de fosfolipídeos, é extremamente vulnerável à lesão oxidativa pela peroxidação lipídica, quando da reintrodução de oxigênio, após período de isquemia. Por ser ainda a estrutura que proporciona a integridade celular, ela é particularmente suscetível à agressão dos radicais livres. O consumo do ATP celular em associação com o aumento da adenosina monofosfato (AMP) estimula a atividade da fosfofrutoquinase e fosforilase. Isto resulta em aumento da glicólise aeróbica para manter fontes de energia celular pela geração de ATP pela queima das reservas de glicogênio (ROBBINS, 1994).

Os principais mecanismos responsabilizados pelas alterações orgânicas causados pela isquemia reperfusão são: Em primeiro lugar, a geração de radicais livres de oxigênio, que são moléculas compostas de oxigênio parcialmente reduzido, com elétron não pareado no seu orbital externo, altamente instáveis e reativos, podendo causar intensa ação tóxica aos componentes celulares. Os RLO são liberados no momento da reperfusão, sendo os responsáveis pela lise celular, além de ativar o processo peroxidativo das biomembranas lipídicas, levando, assim, ao dano tecidual (COTRAN et al., 1996). E como segundo mecanismo, a ativação da fosfolipase A2 (GÜNEL; ÇAĞLAYAN; ÇAĞLAYAN, 1998).

Os radicais livres do oxigênio são espécies químicas caracterizadas pela presença de um elétron não pareado na última órbita, representado graficamente por um ponto. Essa característica confere a essas substâncias uma grande capacidade de reagir com outras, tornando-as importantes agentes oxidantes nas lesões de isquemia/reperfusão (CICALESE et al., 1996).

As lesões estruturais e funcionais provocadas pelo RLO são basicamente a peroxidação lipídica e a oxidação das proteínas. Estudos demonstraram que o sistema hipoxantina/xantina oxidase e os granulócitos neutrófilos são fontes de produção de RLO (TETIK, 1999). A xantina-oxidase depende do oxigênio para a metabolização da hipoxantina e, quando este é fornecido pela reperfusão, formam-se como subprodutos os radicais livres do oxigênio (RLO), oxidantes com grande capacidade de lesão tecidual (WEIS, 1986; ZIMMERMAN; GRANGER, 1994).

GRANGER et al. (1981) propuseram que a enzima xantina oxidase era a principal fonte de produção de oxidantes seguindo reperfusão de intestino delgado isquêmico. A hipótese era de que a isquemia acelerava a conversão de xantina desidrogenase para o radical de oxigênio, produzindo xantina oxidase. Concomitantemente, o ATP é catabolizado durante o período de hipóxia para hipoxantina. Com a reperfusão e conseqüente reoxigenação, o oxigênio molecular reage com a hipoxantina e xantina oxidase, produzindo metabólitos de oxigênio altamente citotóxico: superóxido e peróxido de hidrogênio e radical hidroxil (PERRY, 1988; ZIMMERMAN; GRANGER, 1994; GUTE et al., 1998; FERRARI, 2001).

Apesar de essencial para minorar o dano da isquemia, a reperfusão pode induzir infiltração neutrofílica, formação de edema intersticial, compressão e disfunção microvascular, até necrose (GUTE et al., 1998).

A reperfusão de um tecido com sangue normoxêmico induz as alterações fisiopatológicas supracitadas, porém numa reperfusão com sangue anoxêmico não produz mudanças significativas no tecido e a introdução limitada do oxigênio molecular durante a primeira hora de reperfusão diminui significativamente a extensão da necrose tecidual. (EARSE; HUMPHREY; CHAIN, 1973; WRIGHT et al., 1988).

No intestino delgado, a concentração de oxigênio resulta do arranjo anatômico dos vasos sangüíneos nas vilosidades intestinais, isto é, o vaso central supre os vasos que se estendem como capilares subepiteliais (LUNDGREN; HAGLUND, 1978). Disto resulta diminuição da tensão de oxigênio do ápice da vilosidade comparada com a base (BOHLEN, 1980). Assim, durante o período de isquemia observam-se hipóxias severas que levam, primeiramente, à morte as células dos ápices das vilosidades dando origem às lesões típicas da isquemia (AHREN; HAGLUND, 1973).

Existe uma ampla variedade de fontes biológicas potenciais para metabólitos citotóxicos do oxigênio: a enzima xantina oxidase, a ativação de leucócitos, a cadeia mitocondrial de transporte de elétrons, o metabolismo do ácido aracdônico e a autoxidação da catecolamina. Destas, a xantina oxidase e a nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH) oxidase leucocitária têm recebido mais atenção nas pesquisas de isquemia-reperfusão (PARKS; BULKLEY; GRANGER, 1983; YOKOYAMA et al., 1990; ARKS; ADAMBI; SKALAK, 2000; SILVEIRA; YOSHIDA, 2004).

1.2 A Glutamina

A espécie animal, para se manter viva, necessita dos três substratos energéticos básicos, isto é, hidratos de carbono, proteínas e lipídios, provenientes dos alimentos. Esses substratos energéticos são oxidados pela célula, produzindo energia. Nesse processo oxidativo, é consumido oxigênio e produzido gás carbônico. Desde o século XVIII, demonstrou-se que a respiração modifica o ar atmosférico, diminui seu volume, muda sua natureza e, em curto espaço de tempo, perde a propriedade de manter a vida (BURTON, 1979; COUTINHO, 1981).

A glutamina é um L - aminoácido neutro, também conhecido como ácido 2-aminoglutarâmico, com características únicas dentre os demais, constituindo 30% a 35% dos aminoácidos do sistema circulatório, com papel fundamental no transporte de oxigênios entre os tecidos (COSTER et al., 2003).

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).

Glutamina é a primeira fonte de energia utilizada pelos enterócitos, sendo um componente metabólico essencial para a proliferação destas células. Há indícios de que a glutamina reduz a atrofia da mucosa intestinal, previne danos intestinais ocorridos no transplante do intestino curto, quimioterapia e radiação. Porém, nenhum estudo observou se ela teria estes mesmos efeitos em uma lesão intestinal já existente.

A glutamina pode se tornar um aminoácido “condicionalmente essencial” durante condições inflamatórias como infecção e agressão, bem como durante o fenômeno de isquemia/reperfusão. Apresenta, nestas funções metabólicas específicas e importantes, especialmente em lesões como infecções ou ferimentos, ou nos casos de doenças com processos catabólicos (NEWSHOLME, 2003), fazendo-se necessário a suplementação de glutamina através da dieta, para a manutenção de seus níveis plasmáticos fisiológicos (LACEY, 1990; GARCIA DE LORENZO et al., 2003).

Atualmente existe um grande interesse no estudo dos antioxidantes devido, principalmente, às descobertas sobre o efeito dos radicais livres no organismo. A oxidação é parte fundamental da vida aeróbica e do nosso metabolismo e, assim, os radicais livres são produzidos naturalmente ou por alguma disfunção biológica. Esses radicais livres cujo elétron desemparelhado encontra-se centrado nos átomos de oxigênio ou nitrogênio são denominados respectivamente ERO (espécie reativa de oxigênio) ou ERN (espécie reativa de nitrogênio) (VISIOLI et al., 2000). No organismo, encontram-se envolvidos na produção de energia, fagocitose, regulação do crescimento celular, sinalização intercelular e síntese de substâncias biológicas importantes. No entanto, seu excesso apresenta efeitos prejudiciais, tais como a peroxidação dos lipídios de membrana e agressão às proteínas dos tecidos e das membranas, às enzimas, carboidratos e DNA (HUSAIN; CILLARD; CILLARD, 1987).

O excesso de radicais livres no organismo é combatido por antioxidantes produzidos pelo corpo ou absorvidos da dieta. De acordo com Halliwell (1985), antioxidante é qualquer substância que, quando presente em baixa concentração comparada à do substrato oxidável, regenera o substrato ou previne significativamente a oxidação do mesmo.

Em condições de estresse oxidativo, uma grande variedade de radicais livres de oxigênio é produzida, o que resulta em dano da membrana celular e aumento da permeabilidade endotelial a fluidos, macromoléculas e células inflamatórias (CHIU et al, 1970): A interação de radicais livres com o endotélio vascular pode também levar à formação de outros mediadores do processo inflamatório, como o PAF (fator ativador plaquetário), além de produtos de ativação do complemento. Em modelo experimental de isquemia-reperfusão de intestino, antagonistas específicos de receptores para o PAF demonstraram efeito positivo na diminuição da adesão ao endotélio e na transmigração extravascular de granulócitos (KUBES; SUZUKI; GRANGER, 1991).

Radicais livres de oxigênio desencadeiam diretamente a ativação de polimorfonucleares, a sua adesão ao tecido endotelial e a outras células similares, bem como a quimiotaxia leucocitária, promovendo assim o desenvolvimento de lesão mediada por leucócitos, em tecidos submetidos à isquemia. É freqüente na prática médica a ocorrência de estados isquêmicos como, oclusões arteriais, transplantes, isquemia mesentérica e choque, os quais acometem número crescente de indivíduos de variadas faixas etária e determinam alta morbimortalidade (HAGLUND et al., 1975).

Entretanto a lesão de reperfusão, diferentemente da lesão isquêmica, é capaz de produzir alteração sistêmica, e não apenas nos locais acometidos pelo fenômeno, de modo que o restabelecimento do fluxo sanguíneo para uma área isquêmica pode ocasionar lesão em todo organismo (GALVÃO et al., 1995).

Em vista das importantes e graves repercussões determinada pela isquemia e reperfusão (IR), vários métodos são utilizados com o objetivo de avaliar e estimar adequadamente as alterações produzidas por este fenômeno (CICALESE et al., 1996; YASSIN et al., 1997).

Trabalhos demonstraram que, em pacientes portadores de isquemia crítica de membros inferiores, a infusão pré-operatória (durante 3 horas imediatamente antes do ato operatório) de l-alanil-glutamina, em dose nutracêutica de 50g do dipeptídeo, promoveu redução de lactato desidrogenase (LDH) e lactato indicando aumento da oxidação de glicose no membro que sofrera isquemia/reperfusão (FORTE, 2003).

A glicose tem seis átomos de carbono e sua metabolização aeróbica resulta em duas moléculas de piruvato, cada uma com três átomos de carbono. Ocorre em uma seqüência de dez passos (a via glicolítica); os cinco primeiros constituem a chamada “fase preparatória”. Nesta fase o tecido investe energia, dois ATP por molécula de glicose, para a transformação da glicose em gliceraldeído-3-fosfato. O ganho energético da glicólise advém na segunda fase dita “de pagamento” com a transformação do gliceraldeído-3-fosfato em duas moléculas de piruvato e com o rendimento de quatro moléculas de ATP para cada gliceraldeído-3-fosfato (LEHNINGER, 2002).

Sob condições aeróbicas o piruvato é oxidado com perda de seu grupo carboxila, sob a forma de CO₂ e liberação do grupo acetila da acetil-coenzima A. Esta última é totalmente oxidada até CO₂ pelo ciclo do ácido tricarbóxico ou de Krebs. A segunda rota para o meta-

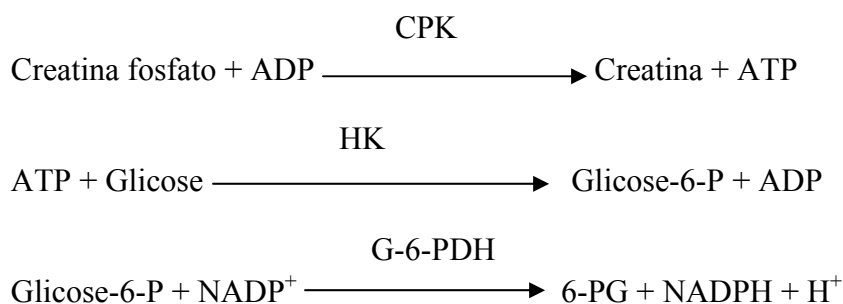
bolismo do piruvato é sua redução a lactato (forma dissociada do ácido láctico) através da chamada via da fermentação do ácido láctico, que ocorre sob condições anaeróbicas (LEHNINGER, 2002), como evidência o Anexo B.

Em anaerobiose o NADH gerado pela glicólise não pode ser reoxidado pelo O_2 . A incapacidade de regenerar o NADH em NAD^+ deixaria a célula sem receptor de elétrons para a oxidação do gliceraldeído-3-fosfato e as reações liberadoras de energia da glicose cessariam. O NADH precisa, portanto ser regenerado por outra via, a via da fermentação do ácido láctico, onde uma molécula de glicose é convertida em duas de lactato em presença da desidrogenase láctica (LDH) com a geração de duas moléculas de ATP e uma de NAD^+ (LEHNINGER, 2002).

A célula muscular estoca glicogênio e fosfocreatina, esta última serve de fonte de fosfatos de alta energia para a síntese de ATP, enquanto a glicogenólise e glicólise estão estimuladas. Nesta célula existem moléculas com ligações de alta energia, como o fosfoenolpiruvato, que podem transferir seu componente de alta energia para outros compostos, objetivando a formação de ATP (DEVLIN, 1997).

Inicialmente o fosfoenolpiruvato em presença de piruvato-quinase adiciona fosfato ao ADP que passa a ATP, esta reação, porém, consome 7,5kcal/mol e tem o piruvato como subproduto. Já na reação mediada pela creatino-fosfoquinase (CPK) a creatina fosfato passa a creatina com a adição de um radical fosfato ao ADP, agora ATP e com consumo de 1,5kcal/mol. Outra reação com estas mesmas características é a conversão de glicose-6-fosfato à glicose em presença da enzima glicose-6-fosfatodesidrogenase, com consumo de 3,3kcal/mol e geração de ATP (DEVLIN, 1997).

A CPK catalisa a reação entre creatina fosfato e adenosina difosfato (ADP) formando creatina e adenosina trifosfato (ATP). Em seqüência, a glicose é fosforilada pelo ATP sob a ação da hexoquinase (HK) formando glicose-6-fosfato, que é oxidada a 6-fosfogluconato (6-PG) pela glicose-6-fosfato-desidrogenase (G-6-PDH) na presença de $NADP^+$. Uma quantidade equimolar de $NADP^+$ é reduzida a NADPH.



O radical livre O^- gera OH^- e este último inicia a peroxidação das membranas celulares. Após múltiplas reações o produto final é o dialdeído malônico, sua dosagem mostra então o efeito oxidante destes radicais. O ácido tiobarbitúrico e as substâncias formadoras do ácido tiobarbitúrico (T-Bars), componentes da cadeia geradora do dialdeído malônico têm sido usados para quantificar laboratorialmente a isquemia (SARDINHA, 1994).

Desde que o impacto biológico adverso dos radicais livres esteja estabelecido, existe, por conseqüência, a necessidade de bloquear seus efeitos deletérios. Múltiplos compostos podem atuar como antioxidantes, destes destaca-se a glutathiona, com significativa ação antioxidante (JORDÃO JUNIOR et al., 1998).

Os aminoácidos, em especial os não essenciais, exercem importante papel metabólico sobre o intestino, devido ao organismo possuir o poder de sintetizá-los. Já os aminoácidos essenciais são aqueles que não podem ser produzidos pelo corpo humano, ou seja, não são sintetizados diretamente pelo organismo. Dessa forma, estes aminoácidos são adquiridos pela ingestão de alimentos. Além do mais, os aminoácidos, são essenciais para a sobrevivência celular, intervindo na síntese das proteínas, na regulação do metabolismo, no crescimento celular, na regulação do volume celular e na produção de energia metabólica.

Windmueller e Spaeth (1974) publicaram um dos primeiros estudos, no qual demonstrou que aminoácidos, em especial os não essenciais, exerciam um importante papel metabólico sobre o intestino. Reeds e Burrin (2001) observaram que o intestino remove até 25% do fluxo sistêmico de glutamina.

De acordo com o trabalho de Windmueller e Spaeth (1980) ficou demonstrado que além de seu importante papel na geração de energia para o intestino, a glutamina era precursora de uma série de vias metabólicas importantes, especialmente aquelas que conduzem à síntese de ornitina, citrulina, prolina e arginina.

Estudos iniciais na cicatrização de feridas em roedores demonstraram que a suplementação dietética da arginina aumenta significativamente a síntese do colágeno e a força tensional da cicatriz (SEIFTER et al., 1978). Finalmente, a importância da arginina na manutenção da troficidade intestinal pode ser mencionada. Por um lado um aumento no metabolismo da arginina, induzido pelo cortisol, resultando em prolina e poliamidas, pôde ser demonstrado como um importante fato na adaptação dos enterócitos ao desmame (FLYNN; WU, 1997).

Além de ser uma precursora da glutamina e arginina, a ornitina α -cetogluturato (OKG), também substitui a glutamina nas vias metabólicas, em especial, a gliconeogênese e produção direta de glutamina (WINKLER et al., 1993).

No estudo de Schuster et al (2005) foi avaliado o modelo de perfusão isolada em camundongos prevenindo as injúrias causadas pela reperfusão isquêmica durante quatro dias com a utilização oral da ornitina α -cetogluturato. Os autores concluíram que a administração de ornitina α -cetogluturato foi eficiente para prevenir as injúrias de reperfusão isquêmica.

Vale ressaltar que as lesões provocadas pela isquemia e reperfusão tecidual representam um grave e freqüente problema de saúde, seu diagnóstico é relativamente fácil, o tratamento, porém, permanece sem uniformização nos diferentes serviços. Esta variação de condutas deriva do fato de não haver estudos comparativos entre as condutas ou uma droga de eleição que demonstre efetividade, fácil manuseio posológico, baixo custo e poucas reações adversas (SILVEIRA; YOSHIDA, 2004). No anexo C, encontra-se a estrutura do alfa-cetogluturato.

Presumidamente dois componentes podem ser pensados como precursores da glutamina: o alfa-cetogluturato (AKG), mostrado na figura 15, e o glutamato, porém a maioria dos estudos demonstra que o glutamato não atua como a glutamina. Em contrapartida o AKG puro ou sob a forma de sal ornitina tem demonstrado potência anaeróbica em situações de estresse (CYNOBER, 1995; DURANTON et al., 1998).

Estudos experimentais mostraram que o α -cetogluturato pode, parcialmente, prevenir a perda muscular de glutamina em situações de estresse (CYNOBER, 1995), atuando como intermediário da “lançadeira malato aspartato” (LEHNINGER, 2002), este processo será melhor discutido no item Ornitina alfa-cetogluturato.

O transporte do AKG é descrito como sódio-dependente no fígado, porém é sódio-independente nos fibroblastos (CYNOBER, 1995). O AKG pode estar envolvido no equilíbrio ácido-básico através do metabolismo renal e hepático. No fígado, o AKG encontra-se principalmente no tecido perivenoso. Durante a acidose, a inibição da glutaminase periportal e da síntese de uréia pode diminuir a utilização de bicarbonato (HCO_3^-) e aumentar na chegada de amônia às células perivenosas. Nesta situação o AKG é intensivamente usado para a síntese da glutamina (STOLL; HAUSSINGER, 1989; DE BANDT et al., 1998).

No rim, a administração de AKG em cães em estado catabólico reduz a queda da glutamina e aumenta a produção de glutamato por este órgão (ROTH et al., 1991). Na perfusão isolada dos rins de ratos com acidose foi sugerido (WELBOURNE, 1993) que, na presença de glutamina, o AKG induz a redução da produção de NH_4^+ em 80% com um aumento de cinco vezes na produção de HCO_3^- . O AKG também melhora a filtração glomerular e a reabsorção de HCO^- (WELBOURNE, 1993).

No intestino este aminoácido é ativamente absorvido pela mucosa e sua utilização intestinal aumenta rapidamente após a infusão intrajejunal (ROTH MERTEN et al., 1990; WINKLER et al., 1993). As principais relações metabólicas da alfa-cetoglutarato encontram-se no anexo D.

1.3 Ornitina alfa-cetoglutarato (OKG)

A partir do estudo de Trémolières, Scheggia e Flament (1972) demonstrando a melhora no nível nutricional em pacientes cirróticos que receberam OKG, numerosos estudos experimentais e clínicos têm demonstrado o efeito anabólico deste fármaco em situações de estresse (CYNOBER, 1995). O α KG (alfa-cetoglutarato) é um precursor da glutamina e como este encontra-se associado à duas moléculas de ornitina no composto OKG, todos os efeitos metabólicos da ornitina e do α -cetoglutarato tem sido relatado, além de interações específicas da OKG.

A administração de doses farmacológicas de OKG em ratos, com queimaduras, controla a redução muscular de glutamina (LE BOUCHER et al., 1997) ao contrário da administração direta de glutamina. Em situações de catabolismo o estado de hidratação do músculo depende da distribuição iônica através da membrana. A OKG consegue penetrar a membrana celular mesmo em situações de edema celular e redução do gradiente de sódio desta membra-

na. Ao contrário, a glutamina não atravessa facilmente a membrana nestas condições (CYNOBER, 1995; DURANTON et al., 1998).

Ornitina alfa-cetoglutarato, mais que uma precursora da glutamina e arginina pode também substituir a glutamina em várias vias metabólicas como: a geração de base pelo rim, produção de energia ou gliconeogênese e produção direta de glutamina. Tanto o α -KG quanto a OKG aumentam a concentração portal de glutamina, presumivelmente através da diminuição do consumo de glutamina pelos enterócitos (WINKLER et al., 1993).

Estudo publicado por Raul et al (2005) demonstrou que após três dias de jejum, os ratos renutridos com OKG (1g/kgdia) apresentaram hiperplasia nas vilosidades intestinais e aumento das hidrolases no bordo em escova. Estes efeitos dependem da síntese de poliamina enzima envolvida em processo embriogênicos. A OKG também tem demonstrado aumento na troficidade intestinal após transplante de intestino delgado ou ressecção extensa (CZERNI-CHOW et al., 1997; DE OCA et al., 1997). Ainda mais, a ornitina compartilha com a arginina a capacidade de estimular a secreção de hormônio do crescimento e insulina.

O estudo publicado por Le Boucher et al (1997) utilizando modelo de rato com queimadura, demonstrou que apesar de diferentes sais do α KG apresentarem algum aumento na concentração de glutamina, a maior concentração de glutamina foi observada no plasma, músculo e fígado após a administração de OKG.

O crescimento de cultura de fibroblastos foi mais significativo quando em presença de OKG do que quando encubados apenas com α KG ou ornitina individualmente. Este efeito foi bloqueado por difluorometil-ornitina, um inibidor da ornitina de descarboxilase, indicando que a síntese de poliaminas está envolvida (CYNOBER, 1995). Estudo publicado por Roch-Arveiller et al (1997) demonstrou que a administração de OKG em ratos com queimadura, previne a diminuição da função dos leucócitos polimorfonucleares induzida pela queimadura. Este efeito pode estar relacionado a secreção de hormônio do crescimento e da geração de óxido nítrico da arginina, derivada da ornitina (ROCH-ARVEILLER et al., 1997).

Quando em associação com a ornitina, existe uma maior formação de glutamina e outros aminoácidos do que quando em administração individual, esta última forma de administração leva a um aumento apenas do glutamato no plasma (CYNOBER, 1995).

Quaisquer que possam ser os mecanismos envolvidos, o α KG e a OKG podem modular o hipercatabolismo protéico em situações de estresse. Sua administração está associada com redução do “turnover” protéico, diminuição do catabolismo miofibrilar protéico, atenuação da queda da síntese protéica e atenuação da queda da glutamina muscular (CYNOBER, 1995; DURANTON et al., 1998).

Os elétrons do NADH que são obtidos em vias oxidativas citosólicas - como a cadeia glicolítica, por exemplo, entram na mitocôndria através de um sistema de transporte conhecido como a “lançadeira malato/aspartato” (LEHNINGER, 2002).

Lançadeiras são estruturas químicas que atuam no transporte de metabólitos entre a mitocôndria e o citosol. Através deste processo, o oxaloacetato é reduzido a malato no citosol, este atravessa a membrana mitocondrial para ser reoxidado a oxaloacetato com redução do NAD, agora na matriz mitocondrial. O processo ocorre com gasto de energia.

A lançadeira malato-aspartato (anexo E) é o principal mecanismo para a regulação da concentração citoplasmática de NADH, interferindo diretamente na síntese de lactato e atividade do ciclo de Krebs. A transaminação de aspartato no citoplasma, gerando oxaloacetato e glutamato, permite a re-oxidação de NADH e o subsequente transporte de íons H^+ à mitocôndria para produção de energia (LEHNINGER, 2002).

No citoplasma, oxaloacetato é reduzido pelo NADH gerando malato e NAD^+ . Malato é permutado por a-cetoglutarato, através da membrana mitocondrial e no interior da mitocôndria é oxidado, gerando oxaloacetato e NADH. Glutamato citoplasmático, resultante da transaminação do aspartato, permeia a membrana mitocondrial e reage com oxaloacetato mitocondrial, gerando aspartato e alfa-cetoglutarato, reiniciando o ciclo de reações (LEHNINGER, 2002).

Resumidamente os mecanismos de ação são: atua diretamente gerando glutamina em tecidos-alvo; atua como intermediário obrigatório entre a glutamina e o ciclo de Krebs; utilização direta como substituto (sparing) para células glutamina-dependentes; na geração de chaves metabólicas com efeitos positivos sobre o metabolismo (CYNOBER, 1995; DURANTON et al., 1998), como mostra o anexo F.

As preparações farmacológicas da OKG podem ser para administração oral ou venosa. Como essa última é atualmente de difícil obtenção, alguns autores em trabalhos experimentais, optaram por preparações orais administradas por gavagem ou na dieta dos animais (DURANTON et al., 1998; LUYT et al., 2003; SHUSTER et al., 2008).

O cetoglutarato é originado, no ciclo de Krebs pela descarboxilação do isocitrato. Composto por cinco átomos de carbono em sua cadeia indica a necessidade de mais uma descarboxilação para eliminação completa dos carbonos originados dos nutrientes (glicose, lipídeo ou proteína). Além do mais, verifica-se que o cetoglutarato é o produto das transaminações dos aminoácidos, arginina, histidina, glutamina, glutamato e prolina, as transaminações destes aminoácidos produzem como α -cetoácido o α -cetoglutarato (LEHNINGER, 2002).

Ainda de acordo com Lehninger (2002), o ácido α -cetoglutárico é um dos dois derivados cetona do ácido glutárico. O anion do ácido alfa-cetoglutárico, o alfa-cetoglutarato (oxoglutarato) é um composto de importante atividade biológica. É o cetoácido produzido na desaminação do glutamato e um intermediário no ciclo dos ácidos tricarbóxicos (TCA). O α -cetoglutarato é transaminado, junto com a glutamina, para formar o neurotransmissor excitatório glutamato. O glutamato pode ser então descarboxilado (numa reação que requer a presença de vitamina B₆) a ácido gama-aminobutírico (GABA), um neurotransmissor inibitório.

Ressalta-se ainda, que no TCA, o glutamato será convertido em α -cetoglutarato por meio da desaminação pela glutamato desidrogenase (GDH) ou pela transaminação por uma das transaminases. O α -cetoglutarato será metabolizado no ciclo TCA para succinato, fumarato e malato, sucessivamente. O malato continua sendo metabolizado no ciclo TCA ou deve ser descarboxilado para piruvato e reduzido para lactato. Ambos, glutamina e lactato, são exportados dos astrócitos para o fluido extracelular, e deverão entrar nos neurônios. Nos neurônios o glutamato e a amônia são novamente regenerados. Esta transformação se deve à desaminação e à participação da enzima glutaminase fosfato ativada (PAG) (KVAMME, TORGNER; ROBERG, 2001).

Para a reposição de glutamato, outros aminoácidos reagem com o α -cetoglutarato por transaminação. O resultado é o progressivo esgotamento das reservas de α -cetoglutarato e glutamato, com conseqüências lesivas a nível cerebral. A remoção da amônia deve ser reali-

zada pelo fígado, órgão que transforma a amônia em uréia, composto que é solúvel, 40 vezes menos tóxica, e é excretada pela urina (FELIPO; BUTTERWORTH, 2002).

De acordo com Norenberg e Martinezhernandez (1979), no cérebro de ratos, a amônia exógena é levada para os astrócitos e incorporada principalmente na glutamina. Já para Hawkins, Peterson e Vina (2002) a glutamina deverá deixar o cérebro, levando consigo a amônia, descartando assim o seu excesso.

Vale ressaltar que além de ser uma precursora da glutamina e arginina, a OKG, também substitui a glutamina em outras vias metabólicas como: a geração de base pelo rim, produção de energia ou gliconeogênese e produção direta de glutamina (WINKLER et al., 1993). Em situações de catabolismo o estado de hidratação do músculo depende da distribuição iônica através da membrana. A OKG consegue penetrar à membrana celular mesmo em situações de edema celular e redução do gradiente de sódio desta membrana. Porém, se verifica que a glutamina não atravessa facilmente a membrana nestas condições (DURANTON et al., 1998).

Czernichow et al (1997) constatou que a OKG tem demonstrado aumento na troficidade intestinal após transplante de intestino delgado ou ressecção extensa. Dessa forma, a ornitina compartilha com a arginina a capacidade de estimular a secreção de hormônio do crescimento e insulina. Raul et al (2005) verificou em ratos renutridos com OKG (1g/kg/dia), após três dias de jejum, e, concluíram que estes apresentaram hiperplasia nas vilosidades e aumento das hidrolases no bordo em escova.

A administração de OKG em ratos com queimadura previne a diminuição da função dos leucócitos polimorfonucleares induzida pela queimadura. No entanto, vê-se que este efeito pode estar relacionado a secreção de hormônio do crescimento e da geração de óxido nítrico da arginina, derivada da ornitina (ROCH-ARVEILLER et al., 1997). Segundo Cynober (1995), demonstrou que o crescimento de cultura de fibroblastos foi mais expressivo na presença de OKG quando comparados com cultura encubadas apenas com α KG ou ornitina individualmente. O autor ainda concluiu que este efeito foi bloqueado por difluorometil-ornitina, um inibidor da ornitina de descarboxilase, indicando que a síntese de poliaminas está envolvida. Porém, quando em associação com a ornitina, existe uma maior formação de glutamina e outros aminoácidos do que quando em administração individual.

Em resumo, a OKG atua diretamente gerando glutamina em tecidos-alvos; atua como intermediário obrigatório entre a glutamina e o ciclo de Krebs; utilização direta como substituto (*sparing*) para células glutamina-dependentes; na geração de chaves metabólicas com efeitos positivos sobre o metabolismo (DURANTON et al., 1998). Além de atuar nos mecanismos de desintoxicação amoniacal, combina-se com o amoníaco produzido durante os esforços musculares e permite assim melhorar a recuperação, contribuindo para evitar câibras e dores musculares

Visando evitar ou minimizar os efeitos maléficos da isquemia e reperfusão mesentérica em situações como as acima referidas, diversas substâncias têm sido estudadas. Algumas destas substâncias possuem efeito antioxidante capaz de prevenir as lesões de reperfusão tecidual. Dessa forma, a busca de outros fármacos capazes de reduzir os efeitos deletérios da reperfusão, tem sido objeto de estudo de vários pesquisadores. Não encontramos na literatura consultada estudos abordando o uso do triceptídeo OKG como nutracêutico capaz de modificar a resposta metabólica do tecido submetido às lesões de isquemia e reperfusão. O presente estudo tem por finalidade verificar se a adição da OKG por gavagem 30', 60' e 90' antes dos procedimentos cirúrgicos acrescenta algum benefício metabólico aos organismos desses animais, tornando o intestino mais apto a suportar a isquemia e a reassumir o metabolismo aeróbio durante a reperfusão.

2 OBJETIVO

2.1 Objetivo geral

Analisar os efeitos da OKG na isquemia e reperfusão intestinal, através de modelo experimental no rato.

3 MÉTODO

3.1 Tipo de estudo

Experimental em ratos. A pesquisa foi realizada de acordo com as normas internacionais para pesquisas biomédicas em animais e de acordo com a lei federal 6.638 de 8 de maio de 1979. A provação no Comitê de ética no anexo A.

3.2 Local

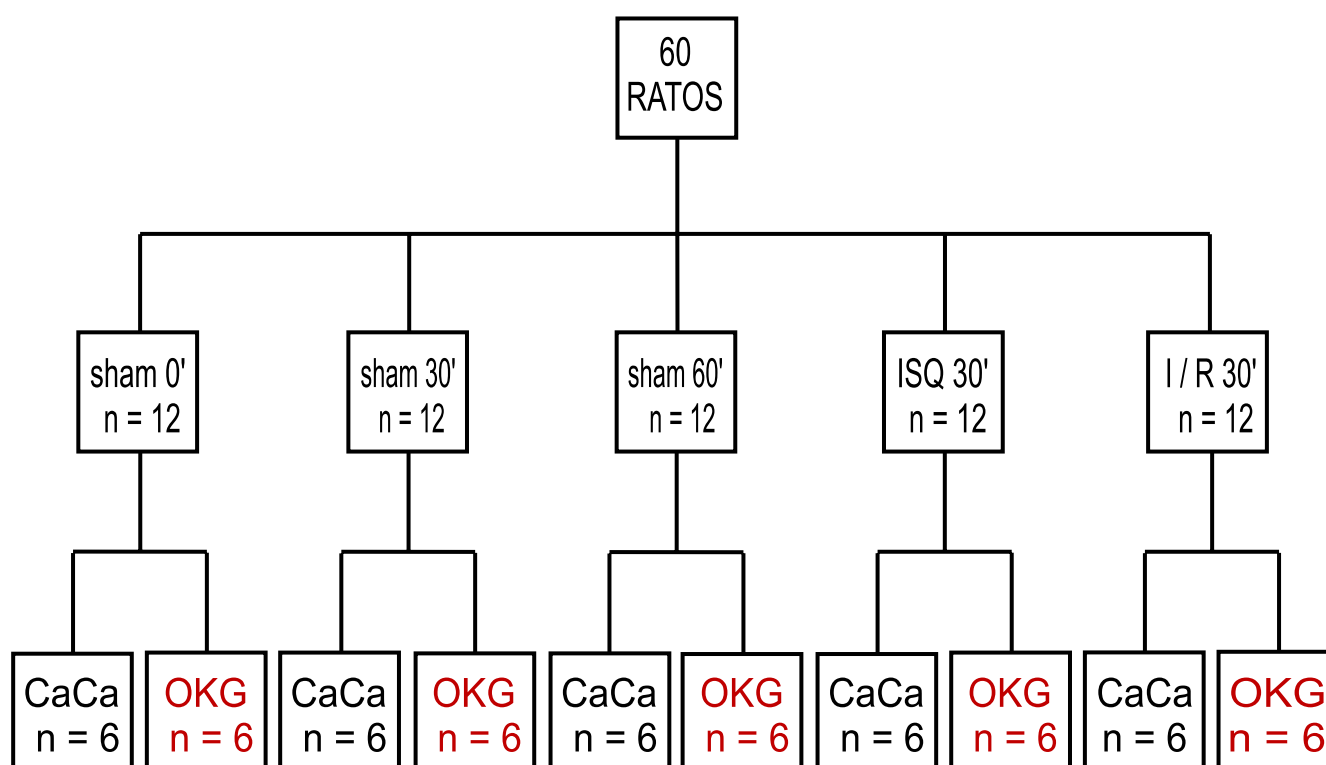
Os procedimentos cirúrgicos foram realizados no Laboratório de Cirurgia Experimental e os animais procedentes do Biotério do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia da Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Ceará. No referido biotério os animais foram mantidos em gaiolas de acrílico com dimensões de 40 x 30 x 25 cm (máximo de 5 animais por gaiola), recebendo ração padronizada (Purina, Nutripal, Porto Alegre, RS, Brasil) e água ‘*ad libitum*’, com luz das 06h00min às 18h00min e escuridão de 18hh00min as 06h00min, temperatura ambiente e higienização diária.

3.3 Amostra

Para este estudo foram utilizados 60 ratos albinos (*rattus norvegicus albinus*, *Rodentia mammalia*), da variedade OUTB Wistar, machos, com peso entre 250 e 320g, idade entre 90 e 100 dias.

3.4 Delineamento experimental

Os 60 ratos foram distribuídos em cinco grupos de 12 animais: 1 – Grupo Sham 0’. 2 - Grupo Sham 30’. 3 - Grupo Sham. 60’. 4 - Grupo isquemia. 5 - Grupo isquemia/reperfusão. Cada grupo dividido em dois subgrupos com 06 animais. Experimento alfa-cetoglutarato (OKG) e referência caseinato de cálcio (CaCa).



A gavagem foi realizada com OKG (5g/kg) em 2,0ml de água destilada para os subgrupos de teste, e caseinato de cálcio (5g/kg) em 2,0ml de água destilada para os subgrupos referência.

Cada grupo é composto por dois subgrupos de seis animais, os quais foram submetidos à gavagem com OKG e CaCa trinta minutos antes dos procedimentos: 1 – Laparotomia e coleta de amostras = grupo Sham 0' (s0'). 2 - Laparotomia e coleta após trinta minutos = grupo Sham 30' (s30'). 3 - Laparotomia + manipulação + coleta de amostras após sessenta minutos = grupo Sham 60' (s60'). 4 - Isquemia por pinçamento com pinça vascular de um segmento do intestino delgado e mesentério próximo ao ângulo de Treitz e coleta após trinta minutos = Grupo isquemia 30'(i30'). 5 – Reperusão, e após trinta minutos coleta de amostras = Grupo reperusão trinta minutos (r30'). Em todos os grupos foram colhidas amostras de sangue e tecido isquêmico e não isquêmico para posterior análise.

Estes subgrupos variam ainda no fato de terem sido submetidos à administração, por gavagem, do tricéptido de teste ornitina α - cetoglutarato, designado por OKG, ou uma mistura isoprotéica de controle, caseinato de cálcio, designado por CaCa.

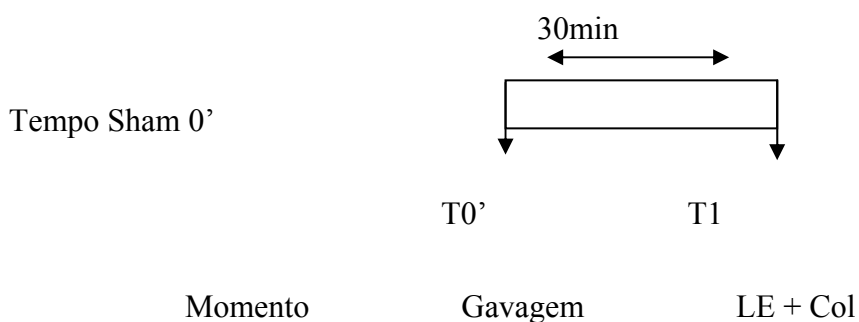
A representação abreviada do nome de cada subgrupo traz na primeira letra o grupo a qual pertence, na segunda, a droga administrada por gavagem e os números mostram o tempo em minutos entre a primeira laparotomia e a coleta do material para análise bioquímica.

Os subgrupos foram assim organizados:

Todos os subgrupos usaram CaCa (5g/Kg) em 2,0ml de água destilada e OKG (5g/kg) em 2,0ml de água destilada.

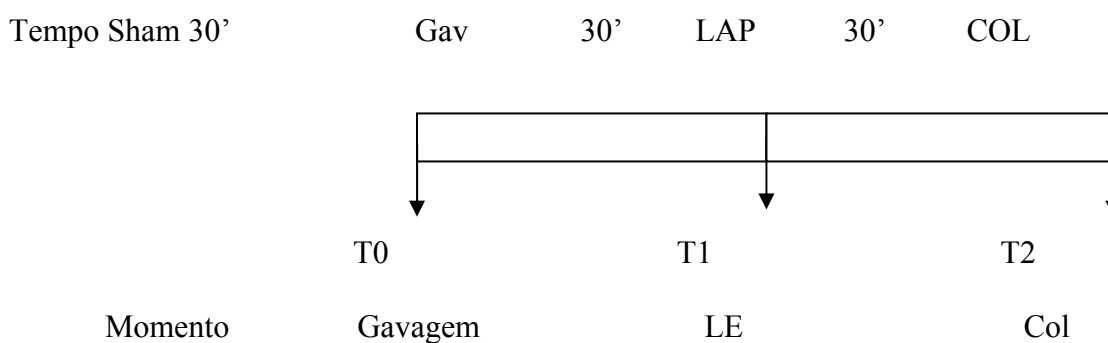
3.5 Cronogramas de procedimento cirúrgico por grupos

3.5.1 Grupo Sham (s0')



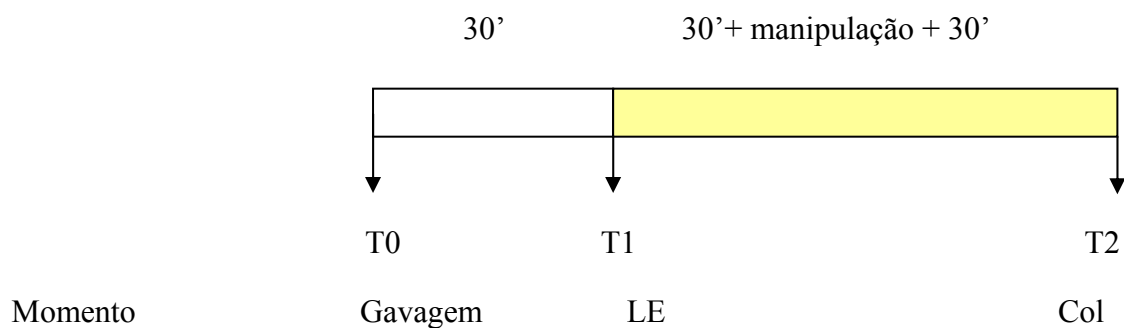
3.5.2 Grupo Sham 30' - s30'CaCa e s30'OKG

Gavagem + Laparotomia explorada + coleta

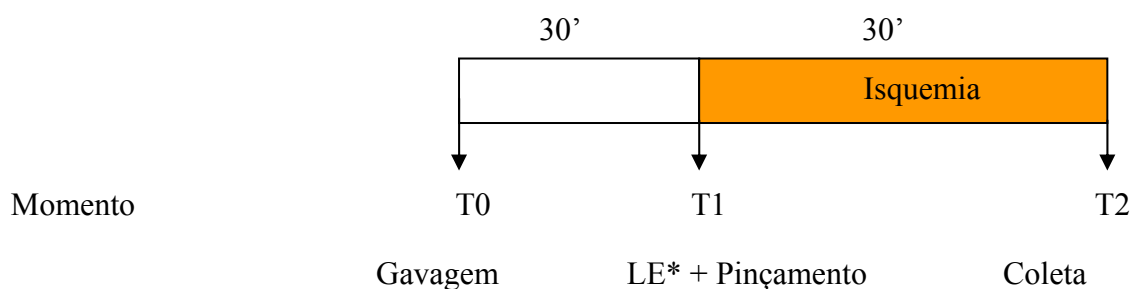


3.5.3 Sham 60' – s60'OKG e s60'CaCa

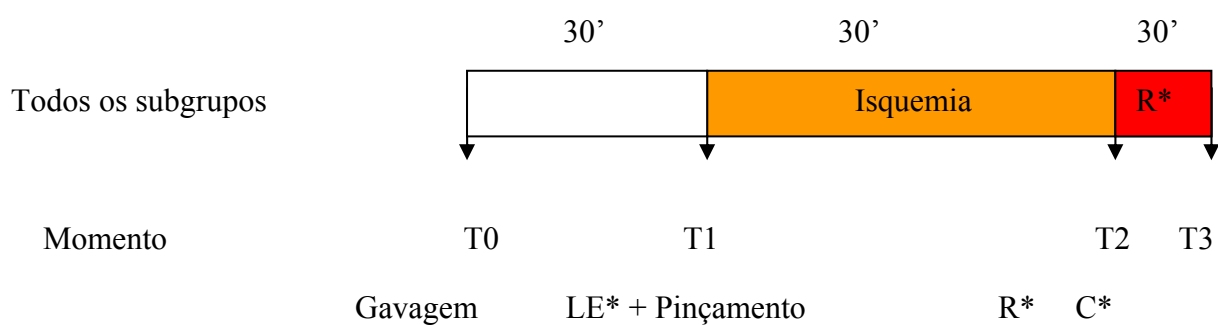
Tempo Sham 60'



3.5.4 Grupo isquemia – i30'OKG e i30'CaCa



3.5.5 Grupo reperfusão – r30'OKG e r30'CaCa



Legenda: LE* - Laparotomia exploradora; R* - Retirada da pinça e reperfusão; C* - Coleta; I/R = Retirada Pinças e Reperfusão; COL = Coleta

3.6 Descrição do cronograma

T0 – Foram feitas as administrações da okg ou do caseinato de cálcio por gavagem para todos os grupos.

T1 – 30min após a gavagem procedeu-se a laparotomia explorada (LE) + coleta de materiais

T2 – 90 min após a gavagem e sessenta minutos após a laparotomia exploradora (LE) + coleta de materiais.

T3 - Para o grupo de isquemia 30'(i30') e rperfusão 30' (r30') procedeu-se a coleta de materiais.

3.7 Processo de coleta

Trinta minutos após a gavagem para o grupo Sham 0' CaCa e okg. Trinta minutos após a LAP no sham 30'CaCa e okg. Sessenta minutos após a laparotomia para o sham 60'CaCa e okg. Trinta minutos após a laparotomia + Isq para o grupo isquemia (i30) 'CaCa e (i30)'okg, e sessenta minutos após a laparotomia para o grupo reperfusão 30' (r30') CaCa e (r30') okg. Após a coleta, em todos os subgrupos, foi realizado sacrifício do animal por luxação cervical.

3.8 Modelo experimental do procedimento cirúrgico

3.8.1 Pré-operatório

Antes do experimento os animais foram submetidos a jejum de alimentos sólidos por 12 horas. Em seguida foram pesados e sorteados para determinar a qual grupo cada animal pertenceria.

3.8.2 Randomização

Foi realizada através de sorteio com distribuição dos animais nos cinco grupos, contendo 12 animais em cada grupo. No laboratório os examinadores não tiveram conhecimento de qual grupo eram provenientes de amostras séricas e teciduais a serem estudadas.

3.8.3 Anestesia

Os animais foram pesados em balança eletrônica de precisão. Todos os procedimentos cirúrgicos foram realizados sob anestesia geral. A solução anestésica utilizada compreendeu uma solução composta de Cloridrato de Xilasina 20 mg/ml (Kensol, Köning, Industria

Argentina) e Cloridrato de Quetamina 50 mg/ ml (Vetanarcol, Köning, Industria Argentina), administrada por via intraperitoneal (i.p.) (quetamina 15mg /Kg peso + xilasina 1 mg/Kg peso)

Os ratos eram considerados anestesiados após estarem em sono profundo, sem reação a estímulos mecânicos, com a perda dos reflexos de retorno à posição de vigília, reflexão do membro após estímulo doloroso e do reflexo palpebral.

3.8.4 Procedimento cirúrgico

Após a obtenção de um adequado plano anestésico, as operações foram realizadas seguindo as seguintes etapas: imobilização do animal em decúbito dorsal, numa placa de madeira por meio de fitas adesivas nos quatro membros, os quais eram mantidos em extensão durante o procedimento.

3.8.5 Laparotomia exploradora

Os animais foram submetidos à laparotomia exploradora longitudinal mediana de aproximadamente quatro centímetros. Um segmento de 5cm de intestino delgado, próximo ao ângulo de Treitz, distalmente 5cm do ceco, era isolado e a isquemia estabelecida através do pinçamento com instrumental cirúrgico neurovascular a traumático incluindo mesentério e alça intestinal durante trinta minutos (grupo isquemia).

A eficácia do processo isquêmico estabelecido era facilmente confirmada pela cianose e hipotermia do segmento de intestino isquêmico e pelo desaparecimento visual das pulsações dos vasos mesentéricos observados na ausência prévia de isquemia.

Posteriormente foi realizada a sutura da cavidade abdominal em plano único, em seguida o animal foi manejado de acordo com o cronograma do procedimento cirúrgico para seu grupo, como mostrado no Anexo G.

3.9 Análises laboratoriais

Dosagens plasmáticas: T-BARS, Glicose enzimática, Glicose 6 PDH, piruvato, acetato, lactato, glutatona, CPK, LDH, 3HDBH e dosagens do tecido intestinal: T-BARS, glutatona, Glicose enzimática, lactato, piruvato, mioloperoxidase, 3HDBH, G 6 PDH.

3.9.1 Tratamento das amostras de tecido e sangue

Os fragmentos de intestino, logo depois de retirados, eram imediatamente prensados e mergulhados em nitrogênio líquido a cerca de 190 graus centígrados negativos. Esta técnica baixa a temperatura tissular a aproximadamente 80 graus centígrados negativos em um tempo inferior a 0,1 segundo. O tecido intestinal era então triturado e transformado em fina camada de pó com o auxílio de utensílios de porcelana (gral e pistílio), sempre acrescentando nitrogênio líquido para manter o tecido congelado (WILLIAMSON; LUND; KREBS, 1967).

Tanto o sangue arterial como o tecido intestinal em pó eram colocados isoladamente em tubos e ensaio diferentes, com capacidade de 10ml, contendo 5ml de ácido perclórico 0,75M, imersos em gelo no interior de recipiente de isopor. A imersão neste ácido provoca a inativação e precipitação rápida das proteínas que são removidas por centrifugação a 2.000 rotações por minuto durante 10 minutos. Desprezando-se o precipitado, colocava-se o sobrenadante (extrato ácido) em tubos de ensaios de vidro de 10ml, previamente pesados. Os tubos eram novamente pesados, obtendo-se dessa maneira um volume ácido. A seguir um indicador de pH universal era adicionado ao volume ácido juntamente com uma solução de hidróxido de potássio a 20% até que o pH permanecesse entre 7,0 e 8,0. Os tubos eram então repesados e centrifugados a 2.000 rotações por minuto durante 10 minutos. Novamente se transferia para outro tubo de ensaio o sobrenadante, agora extrato neutro, que foi utilizado para análise dos metabólitos por método espectrofotométrico.

3.9.2 Princípio básico da análise enzimática

Um ensaio enzimático baseia-se no princípio de que uma reação enzimática específica em que há participação do substrato é completada com a redução de $\text{NAD}^+/\text{NADP}^+$ ou oxidação de NAD/NADPH . Os nucleotídeos piridina ($\text{NAD}^+/\text{NADP}^+$) absorvem luz a 260mm e no estado reduzido (NADH/NADPH) têm uma absorção adicional de, no máximo, 340mm. Portanto, através de medida de densidade óptica a 340mm, pode-se acompanhar a conversão enzimática do substrato diretamente em uma cubeta no espectrofotômetro. A densidade óptica, independentemente se NAD^+ aceita H^+ ou se NAD^+ doa H^+ , aumenta ou diminui em 6,22 unidades com a produção ou o consumo de um micromol de NAD/NADPH .

Em uma reação enzimática específica um micromol de substrato reage com um micromol de NAD/NADP^+ (ou NADH/NADPH), logo a mudança na densidade óptica refletirá

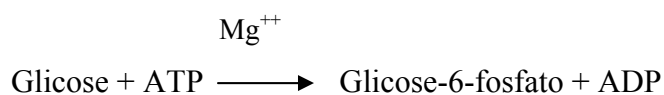
rigorosamente a quantidade de substrato consumida pela reação. Sendo as condições do ensaio ótimas, a conversão do substrato é praticamente completa e a diferença da densidade da densidade óptica pode ser usada para calcular a concentração do referido substrato, multiplicando-se por um fator de diluição apropriado.

A qualidade de uma análise enzimática depende da limpidez da enzima, no entanto a precisão depende das condições ideais para a realização do exame. A sensibilidade do ensaio enzimático é limitada pelo fato de que a conversão suficiente de NAD/NSDPH ou vice-versa deve ocorrer para produzir uma mudança mensurável na densidade óptica.

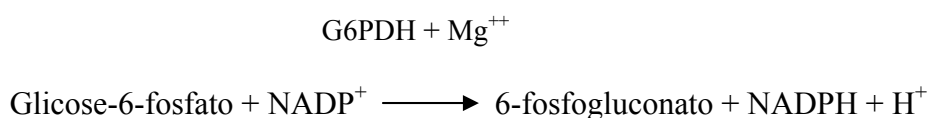
3.9.3 Determinação da D-Glicose

A glicose foi determinada seguindo o método descrito abaixo. Stein e Moore (1954). A D-glicose foi determinada seguindo o método descrito abaixo:

1. Reação auxiliar



2. Reação indicadora

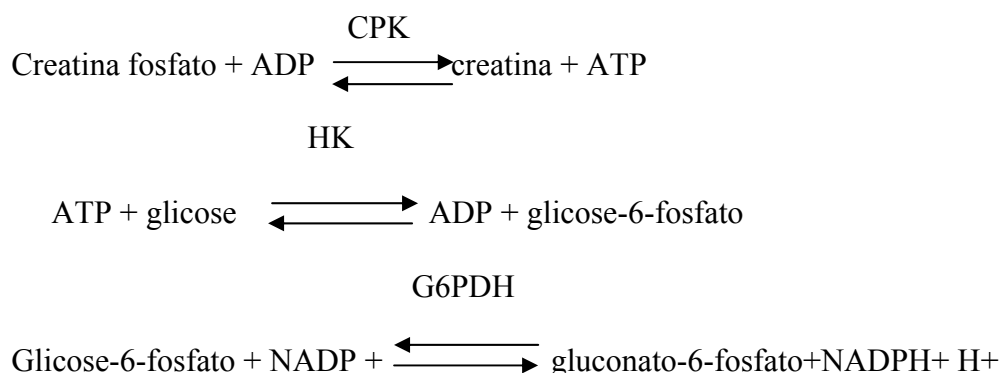


Com pH 7,5 o equilíbrio para reação indicadora é desviado para a direita, garantindo o término completo de ambas as reações, uma vez que a glicose-6-fosfatase, formada na reação anterior, é rapidamente usada na reação seguinte ainda que a hexoquinase catalise a fosforilação de vários outros monossacarídeos, a especificidade do ensaio consiste em a glicose-6-fosfatodesidrogenase (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; 02ml de cloreto de magnésio 0,1M; 02ml de ATP 0,01M; 0,2ml de NAD 1% e 0,13ml de G6PD (1mg/ml). Esta solução foi renovada para cada ensaio. Cada cubeta tinha um volume total de 2ml (= 0,1 da amostra neutralizada + 9ml de água destilada + 1ml de solução tampão). Todas as cubetas foram lidas a 340nm, 10 e 15 minutos após adição de 0,01ml de hexoquinase.

3.9.4 Dosagem da creatina fosfoquinase

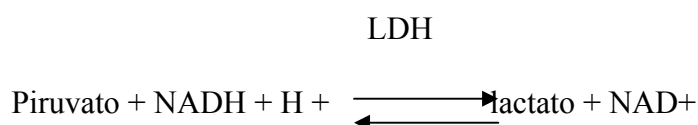
A CPK foi determinada através do método padrão otimizado. A determinação desta enzima ocorre segundo as reações:



Método de análise: Leitura em espectro Fotômetro: comprimento de onda — Hg 365nm, 340nm ou Hg 334nm, em cubeta de 1cm à temperatura desejada, mantendo-a constante ($\pm 0,5^\circ\text{C}$) durante a realização do teste. Homogeneizado e incubado na temperatura desejada por 5 min. Lida a absorbância e ao mesmo tempo acionado o cronômetro. Ler a absorbância após exatamente 1,2 e 3min. Finalmente usando as leituras das absorbâncias, calculada a atividade da CPK na amostra pela multiplicação desta média por um fator de conversão de unidades internacionais.

3.9.5 Dosagem da desidrogenase láctica

A LDH foi determinada, usando a redução do piruvato pelo NADH que é catalisada pela desidrogenase láctica (LDH), segundo a reação:



Método de análise: Termostatizar o reagente na temperatura desejada, mantendo-a constante ($\pm 0,5^\circ\text{C}$) durante a execução do teste. Leitura em espectro fotômetro: comprimento de onda – Hg 365nm, 340nm ou Hg 334nm, em cubeta de 1 cm à temperatura de 25°C , 30°C ou 37°C durante a realização do teste.

Homogeneizada e incubada na temperatura desejada por 5 min. Lida a absorbância e ao mesmo tempo acionado o cronômetro. Lida a absorbância após exatamente 1, 2 e 3min. Finalmente usando as leituras das absorbâncias, calculada a média da variação da absorbância

por minuto. Calculada a atividade da CPK na amostra pela multiplicação desta média por um fator de conversão de unidades internacionais.

3.9.6 Dosagem da concentração das Substâncias Reagentes do Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)

A avaliação da peroxidação lipídica foi realizada através da reação com ácido tiobarbitúrico. A técnica tem por objetivo quantificar o dialdeído malônico (MDA) formado na peroxidação lipídica. Esse composto, quando extraído da solução por um solvente orgânico (n-butanol), tem sua concentração determinada e expressa como substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Esta técnica é de fácil execução, baixo custo e pode ser empregada para determinação das “TBARS” em diferentes materiais biológicos, especialmente em tecidos. Com esse fim, 5 ml de sangue foram colhidos e submetidos a processo de centrifugação, sendo o plasma imediatamente congelado em nitrogênio líquido a -70°C .

Posteriormente, a amostra foi levada à temperatura ambiente, retiraram-se 100 μL de plasma e adicionou-se 4ml de KCl gelado a 1,15%, de forma que a amostra ficasse homogênea, resultando em uma solução ácida concentrada. Retirou-se uma alíquota de 0,5 ml da amostra e acrescentou-se 1ml da solução aquosa de TBA a 0,6% e 3ml da solução de ácido fosfórico (H_3PO_4) a 1%. A mistura foi colocada em banho fervente, pois, a mistura foi agitada por 2 minutos e então centrifugada por 10 min a 3000 rpm.

A absorbância da fase sobrenadante foi medida em espectrofotômetro Beckman (520nm a 535nm), mensurando-se a concentração plasmática das Substâncias reagentes do Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) em unidade de nmol MDA/ml plasma.

3.9.7 Dosagem da concentração de glutatona

A determinação da concentração de glutatona baseia-se na reação do 2-ácido nitrobenzóico com o tiol livre, originando um dissulfeto misto mais ácido 2-nitro-5-tiobenzóico. A medida do produto de formação da reação é feita em espectrofotômetro de Beckman, por leitura da absorbância a 412 nm.

Utiliza-se como reagentes: Ácido etilenodiaminotetracético (EDTA); Ácido tricloracético a 50% (ATC, 50%); Tampão TRIS 0,4 M, pH 8,9; 2-ácido nitrobenzóico (DTNB) 0,5 M e Glutatona (GSH, 1mg/ml).

Após a amostra ser submetida a processo de centrifugação, o plasma é imediatamente congelado em nitrogênio líquido a 70°C. Posteriormente, com o plasma tendo sido levado à temperatura ambiente, retiraram-se 100 µL e realizou-se a homogeneização em 5 ml de EDTA 0,02 M. Retiraram-se 4 ml do homogenato e mistura-se com 3,2 ml de água destilada e 0,8 ml de ácido tricloroacético a 50%. O tubo é agitado e centrifugado a 3000 rpm por 15 min. Retiraram-se 2 ml do sobrenadante e acrescentam-se 4 ml de TRIS 0,4 M (pH 8,9) e 0,1 ml de DTNB 0,01 M. Agita-se a mistura para homogeneização e em seguida lêem-se as absorvâncias no espectrofotômetro à 412 nm. A concentração final de glutatona, em µmol/ml, é obtida comparando-se o valor da absorvância com uma tabela padrão.

3.9.8 Dosagem da concentração de lactato

Para dosagem da concentração de lactato, utilizou-se uma solução tampão, contendo: 40 ml de TRIS 0,2 M; 5 ml de hidróxido de hidrazina 100%; 25 ml de EDTA.

Completa-se a mistura com água destilada, para atingir um volume de 100 ml e ajusta-se o pH da solução para 9,5, com ácido clorídrico 5 M. Em cada 10 ml da solução tampão foi adicionado 1 ml de NAD⁺/NADP⁺ ou oxidação de NADH/NADPH. Os nucleotídeos purina (NAD⁺, NADP⁺) absorvem a luz a 260 nm, e, no estado reduzido (NADH, NADPH), tem uma absorção adicional de no máximo 340 nm. Portanto, através de medida de densidade óptica a 340 nm, a conversão enzimática do substrato pode ser acompanhada, diretamente, em uma cubeta no espectrofotômetro. Independentemente se NDA⁺ aceita H⁺ ou se NADH doa H⁺, a densidade óptica aumenta ou diminui em 6,22 unidades com a produção ou consumo de 01 µmol de NADH/NADPH.

Sabendo-se que em uma reação enzimática específica, um µmol de substrato reage com um µmol de NAD⁺/NADP⁺ (ou NADH/NADPH), a mudança na densidade óptica refletirá, rigorosamente, a quantidade de substrato consumida pela reação. Sendo as condições do ensaio ótimas, a conversão do substrato é praticamente completa e a diferença da densidade óptica pode ser usada para calcular a concentração do substrato no sangue, multiplicando-se por um fator de diluição apropriado.

3.9.9 Dosagem da concentração de piruvato

Após coleta de sangue heparinizado ter sido realizada da linha arterial, 2ml de sangue foram colocados em um tubo de ensaio, com capacidade para 10ml, contendo 5ml de ácido perclórico a 5% e imerso em gelo no interior de um recipiente de isopor. A imersão neste ácido provoca inativação e precipitação rápida das proteínas para que possam ser removidas por centrifugação a 2000rpm por 10 minutos. Após a centrifugação desprezou-se o precipitado e colocou-se o sobrenadante (extrato ácido) em tubos de ensaio de vidro de 10ml, previamente pesados. Os tubos foram novamente pesados. Obteve-se desta maneira um volume ácido. A seguir, duas gotas de um indicador de pH universal foram adicionadas ao volume ácido juntamente com uma solução de hidróxido de potássio a 20% até que o pH ficasse entre 7,0 e 8,0. Os tubos foram então mais uma vez pesados e centrifugados a 2000rpm durante 10 minutos. Novamente se transferiu para outro tubo de ensaio o sobrenadante, agora extrato neutro, que foi utilizado para análise dos metabólitos por método espectrofotométrico. A dosagem do piruvato feita logo após a neutralização e as concentrações expressas em $\mu\text{mol/ml}$.

3.9.10 Dosagem da concentração de T-BARS

O teste com o ácido tiobarbitúrico (“TBA”) foi introduzido por Kohn e Liversedge em 1944 e ainda é um dos métodos mais utilizados para medida da peroxidação lipídica.

A técnica tem por objetivo quantificar o dialdeído malônico (MDA) formado na peroxidação lipídica. Esse composto, quando extraído da solução por um solvente orgânico (n-butanol), tem sua concentração determinada e expressa como substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Esta técnica é de fácil execução, baixo custo e pode ser empregada para determinação das “TBARS” em diferentes materiais biológicos, especialmente em tecidos (UCHIYAMA e MIHARA, 1978; OKHAWA, 1979). Com esse fim, 5ml de sangue arterial foram colhidos e submetidos a processo de centrifugação, sendo o plasma imediatamente congelado em nitrogênio líquido a 70°C .

Posteriormente, a amostra foi levada à temperatura ambiente, retiraram-se 100 μL de plasma e adicionou-se 4 ml de KCl gelado a 1,15%, de forma que a amostra ficasse homogênea, resultando em uma solução ácida concentrada. Retrouse uma alíquota de 0,5 ml da amostra e acrescentou-se 1ml da solução aquosa de TBA a 0,6% e 3ml da solução de ácido fosfórico (H_3PO_4) a 1%. A mistura foi colocada em banho fervente, pois o MDA é capaz de reagir,

sob aquecimento em meio ácido, com o ácido tiobarbitúrico (“TBA”) originando composto de cor rosa. Adicionou-se então, 4 ml de n-butanol. Após isso, a mistura foi agitada por 2 minutos e então centrifugada por 10 min a 3000 rpm.

A absorbância da fase sobrenadante foi medida em espectrofotômetro Beckman (520 nm a 535 nm), mensurando-se a concentração plasmática das Substâncias Reagentes do Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) em unidade de nmol MDA/mL plasma.

3.9.11 Dosagem da concentração da mieloperoxidase

Desde a publicação de Bradley, Thiru e Pober (1995), descreveu o uso de uma enzima específica encontrada no interior dos neutrófilos, a mieloperoxidase (MPO) como método seguro para comprovar a presença dos mesmos, outros autores Mullane, Kraemer e Smith (1985) usaram a medida de atividade da mesma como marcador da presença de neutrófilos em tecido cardíaco.

O acúmulo de neutrófilos no tecido foi medido pelo método de dosagem de mieloperoxidase. Após coleta, a amostra foi acondicionada em *ependorf* com buffer gelado (NaCl 0,1 M, NaPO₄ 0,02 M, NaEDTA 0,015 M, pH 4,7). O tecido foi pesado e em seguida homogeneizado em Polytron® PT 3100 a 13000 rpm. No *pellet* foi feito lise hipotônica com solução de NaCl 0,2% e após 30s adição de NaCl 1,6% com glicose 5%. Após centrifugação, o *pellet* foi ressuspendido em buffer NaPO₄ 0,05 M (pH 5,4) contendo 0,5% *hexadecyltrimethylammonium bromide* e rehomegeneizado. Após centrifugação a 13000 rpm, 5 WL do sobrenadante foram utilizados para a dosagem em placas de 96 wells diluído em 45 WL de NaPO₄ 0,08 M. A atividade da mieloperoxidase no sobrenadante foi dosada usando *tetramethylbenzidine* (TMB) 1,6 mM e H₂O₂ (0,5 mM) e lida no leitor de placas de 96 wells à 450 nm. Os resultados foram expressos em número total de neutrófilos x 10³/mg de tecido comparando adensidade óptica (D.O.) do sobrenadante do tecido com a D.O., do neutrófilo intestinal do rato (neutrófilos do intestino do rato induzidos por injeção de 3 mL de caseína 5%) em uma curva padrão e processados da mesma maneira.

3.9.12 Dosagem da 3HBDH

As concentrações da 3HBDH foram determinadas de acordo com o método descrito por Williamson, Lund e Krebs (1967).

Solução tampão: 100ml de TRIS a 0,2 molar; 6ml de hidrato de hidralazina a 100%; 80ml de H₂O; 25 μ g de EDTA; 0,25ml de hidrato de hidralazina a 100% e completa-se com 100ml de água destilada

O pH da solução tampão do ensaio foi ajustado para o pH de 8,5 com ácido hidrolórico 5M. Antes de iniciar o ensaio, foi adicionado 1ml de NAD⁺ 1% para cada 10ml de solução tampão. O volume total em cada cubeta foi de 2ml, sendo 0,5ml de amostra neutralizada, 0,5ml de água destilada, e 1ml da solução tampão com NAD. As cubetas foram lidas a 340nm e 50 a 60 Minutos após acrescentar 0,01ml da enzima 3-hiroxibutirato desidrogenase.

3.10 Análise Estatística

As figuras foram confeccionadas no Excel for Windows versão 2007 da Microsoft e os dados analisados através do ASISTAT versão 7.5.

A estatística descritiva foi expressa através da média \pm erro padrão média (média \pm EPD), acompanhando-se pelo intervalo de confiança da média a 95% de confiança. Para comparar os valores pré e pós-procedimento nas concentrações das variáveis estudadas foram empregados o teste “t” Student pareado (para variâncias homogêneas e heterogêneas) e ANOVA após análise de normalidade através do teste Kolmogorov-Smirnov. Quando observou a não normalidade aplicou-se o teste de Kruskal-Wallis.

4 RESULTADOS

A seguir serão apresentados os dados resultantes dos metabólitos estudados no plasma e tecidos dos grupos sham 0', sham 30', sham 60', isquemia 30' e rperfusão 30' dos animais tratados alfa cetogluturato (OKG) e animais controle caseinato de cálcio (CaCa).

4.1 Efeitos do procedimento cirúrgico sobre os parâmetros do grupo Sham 0', 30', 60' OKG e CaCa das análises intragrupos

Na tabela 1 e gráfico 1 estão valores médios concentração de glutatona plasmática na análise intragrupos ($\mu\text{mol/mL}$) nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isquemia (i30') e reperfusão (r30'), caseinato de cálcio (CaCa) e alfa cetogluturato (OKG). Apesar das diferentes concentrações não foi observada diferença significativa ($p > 0,05$).

Tabela 1 - Concentração de glutatona plasmática na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30' e I/R 30'.

Subgrupos	Glutaciona plasma ($\mu\text{mol/mL}$)				
	Sham 0	Sham 30'	Sham 60'	Isquemia	Reperfusão
CaCa	24,38 \pm 3,05 (16,54; 32,21)	17,86 \pm 0,77 (15,89; 19,84)	15,89 \pm 0,87 (13,65; 18,13)	17,86 \pm 1,29 (14; 21,19)	18,20 \pm 0,77 (16,22; 20,17)
OKG	21,29 \pm 1,54 (17,32; 25,25)	22,26 \pm 1,82 (17,57; 26,95)	15,95 \pm 0,81 (13,86; 18,04)	19,95 \pm 1,27 (16,69; 23,21)	17,04 \pm 0,24 (16,42; 17,66)
Total	22,83 \pm 1,69 (19,10; 26,56)	20,06 \pm 1,15 (17,52; 22,60)	15,92 \pm 0,57 (14,67; 17,17)	18,91 \pm 0,92 (16,88; 20,93)	17,62 \pm 0,42 (16,69; 18,55)
Prob > t	0,39	0,06	0,087	0,275	0,20

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM)

Resultados expressos entre grupos indicam o Intervalo de Confiança (IC) com 95% de confiança (IC 95%) para a média pelo teste t de Student.

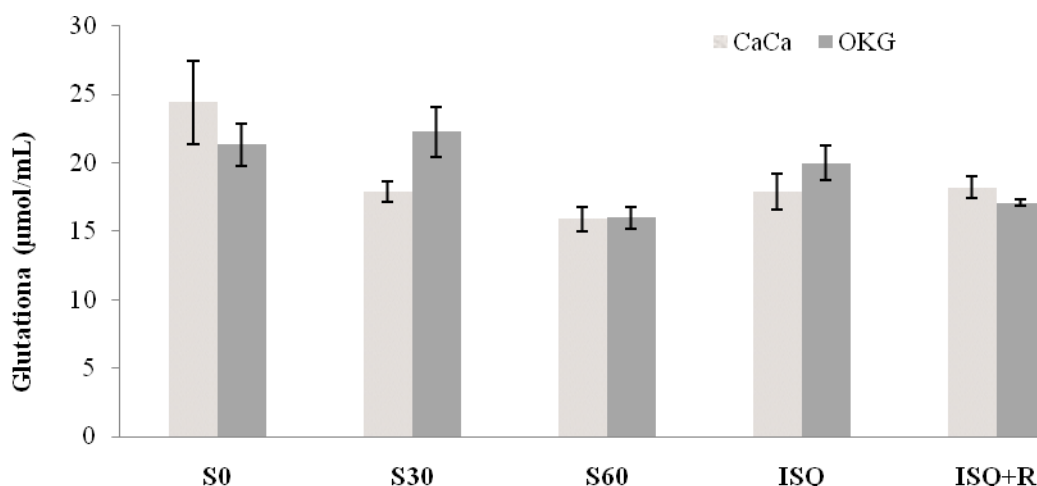


Gráfico 1 – Concentração de glutatona plasmática na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30' e I/R 30'.

Na tabela 2 e gráfico 2 estão os valores médios da concentração de glutatona tecidual ($\mu\text{mol/g}$) nos grupos, s0', s30', s60', i30' e r30' dos animais tratados com OKG e animais controle CaCa. Apesar das diferentes concentrações não foi observada diferença significativa ($p > 0,05$). Houve elevação na concentração de glutatona tecidual, com diferença significativa ($p = 0,0001$) no s30'OKG em relação ao controle. O grupo s0' apresentou elevação com diferença significativa ($p < 0,05$) no s0'CaCa.

Tabela 2 - Concentração de glutatona tecidual na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30' e I/R 30'.

Subgrupos	Glutaciona intestino ($\mu\text{mol/g}$)				
	Sham 0	Sham 30'	Sham 60'	Isquemia	Isquemia+ Reperusão
CaCa	51,99 \pm 2,20 (46,33; 57,64)	25,09 \pm 1,53 (21,16; 29,02)	47,97 \pm 4,91 (35,36; 60,58)	33,04 \pm 3,80 (23,27; 42,80)	35,15 \pm 1,83 (30,44; 39,86)
OKG	32,89 \pm 6,98 (14,95; 50,84)	59,17 \pm 2,39 (53,02; 65,32)	39,97 \pm 5,05 (27,00; 52,95)	29,67 \pm 4,49 (18,12; 41,23)	35,85 \pm 0,24 (27,87; 43,83)
Total	42,44 \pm 4,52 (32,48; 52,39)	31,36 \pm 2,85 (25,08; 37,63)	35,50 \pm 1,72 (31,71; 39,29)	42,13 \pm 5,31 (30,44; 53,82)	43,97 \pm 3,57 (36,12; 51,82)
Prob > t	0,0403	0,0001	0,2826	0,5802	0,8495

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM)

Resultados expressos entre parentes indicam o Intervalo de Confiança (IC) com 95% de confiança (IC 95%) para a média pelo teste t de Student (Variâncias heterogêneas).

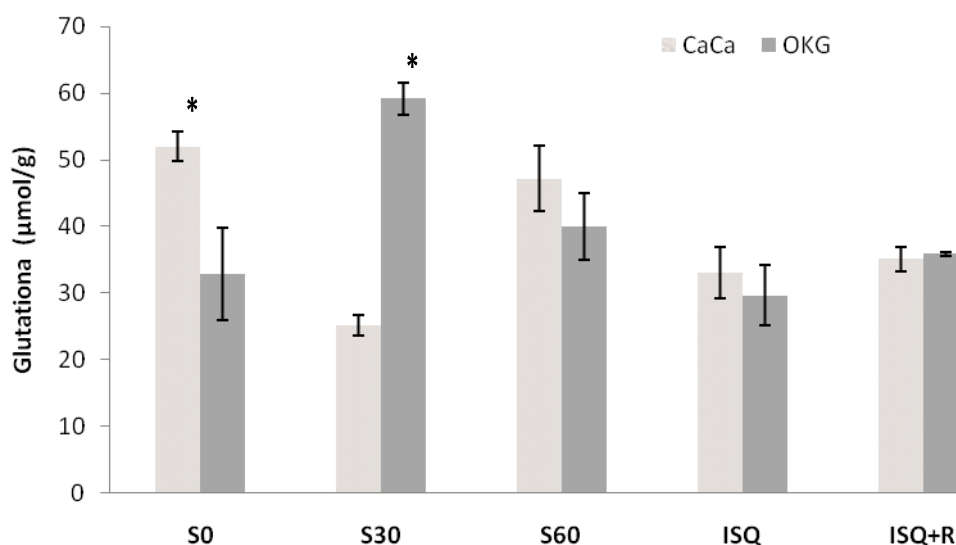


Gráfico 2 – Concentração de glutatona tecidual na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30' e I/R 30'

Na tabela 3 e gráfico 3 estão os valores do acetoacetato plasmático ($\mu\text{mol/mL}$) nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isquemia (i30') reperusão (r30') nos subgrupos, caseinato de cálcio (CaCa) e alfa cetoglutarato (OKG). Ocorreu elevação com diferença significativa ($p < 0,05$) no s0'CaCa e s30'OKG. Nos demais grupos a variação não foi significativa ($p > 0,05$).

Tabela 3 - Concentração do acetoacetato plasmático na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30' e I/R 30'.

Subgrupos	Acetoacetato plasma ($\mu\text{mol/mL}$)				
	Sham 0	Sham 30'	Sham 60'	Isquemia	Reperusão
CaCa	0,196 \pm 0,04 (0,09; 0,30)	0,066 \pm 0,01 (0,05; 0,08)	0,059 \pm 0,01 (0,03; 0,09)	0,071 \pm 0,01 (0,04; 0,11)	0,089 \pm 0,01 (0,07; 0,11)
OKG	0,087 \pm 0,01 (0,05; 0,12)	0,203 \pm 0,01 (0,18; 0,22)	0,055 \pm 0,01 (0,02; 0,09)	0,079 \pm 0,01 (0,05; 0,11)	0,062 \pm 0,02 (0,02; 0,10)
Total	0,14 \pm 0,03 (0,08; 0,20)	0,13 \pm 0,02 (0,09; 0,18)	0,06 \pm 0,01 (0,04; 0,08)	0,08 \pm 0,01 (0,06; 0,09)	0,08 \pm 0,01 (0,06; 0,10)
Prob > t	0,046	0,0001	0,8258	0,6161	0,1548

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM)

Resultados expressos entre grupos indicam o Intervalo de Confiança (IC) com 95% de confiança (IC 95%) para a média pelo teste t de Student.

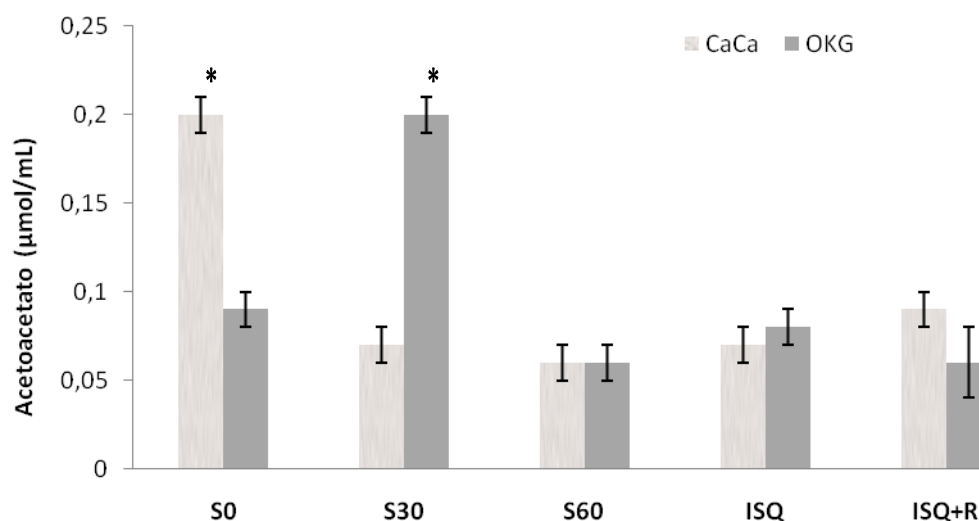


Gráfico 3 – Concentração do acetoacetato plasmático na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30' e I/R 30'.

Na tabela 4 e gráfico 4 estão os valores do acetoacetato intestino ($\mu\text{mol/g}$) nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isquemia (i30') e Reperfusão (r30') nos subgrupos CaCa e OKG. Ocorreu elevação com diferença estatística ($p < 0,05$) no s0'CaCa s30'OKG. Nos demais grupos, apesar das variações, não foi observada diferença estatisticamente significativa.

Tabela 4 - Concentração do acetoacetato intestino na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30' e I/R 30'.

Subgrupos	Grupo acetoacetato intestino ($\mu\text{mol/g}$)				
	Sham 0	Sham 30'	Sham 60'	Isquemia	Reperfusão
CaCa	0,079 \pm 0,014 (0,04; 0,12)	0,051 \pm 0,01 (0,03; 0,08)	0,048 \pm 0,013 (0,02; 0,09)	0,068 \pm 0,01 (0,05; 0,09)	0,156 \pm 0,03 (0,08; 0,23)
OKG	0,033 \pm 0,01 (0,01; 0,05)	0,157 \pm 0,03 (0,15; 0,16)	0,063 \pm 0,01 (0,03; 0,09)	0,057 \pm 0,01 (0,03; 0,08)	0,128 \pm 0,04 (0,03; 0,22)
Total	0,06 \pm 0,01 (0,03; 0,08)	0,10 \pm 0,02 (0,07; 0,14)	0,06 \pm 0,01 (0,04; 0,07)	0,06 \pm 0,01 (0,05; 0,08)	0,14 \pm 0,02 (0,09; 0,19)
Prob > t	0,0220	0,0001	0,4277	0,4142	0,5692

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM)

Resultados expressos entre parentes indicam o Intervalo de Confiança (IC) com 95% de confiança (IC 95%) para a média pelo teste t de Student.

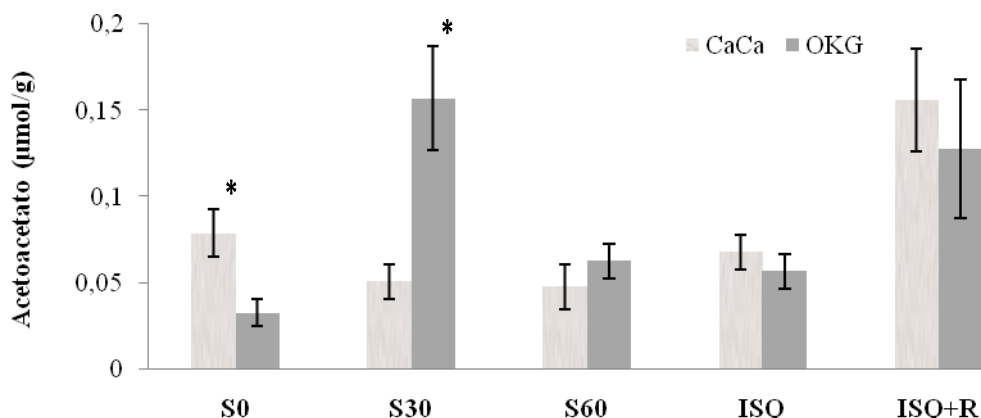


Gráfico 4 – Concentração do acetoacetato intestino na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30' e I/R 30'.

Na tabela 5 e gráfico 5 estão os valores médios da piruvato plasmático ($\mu\text{mol/mL}$) nos grupos, Sham 0, Sham 30', Sham 60', Isquemia (i30') e reperfusão (r30') nos subgrupos, caseinato de cálcio (CaCa) e alfa-cetoglutarato (OKG). Houve diferença com significância estatística ($p < 0,05$) no s30'OKG e s60'OKG em relação aos animais não tratados.

Tabela 5 - Concentração da piruvato plasmático na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60' Isq 30' e I/R 30'.

Subgrupos	Piruvato plasma ($\mu\text{mol/mL}$)				
	Sham 0	Sham 30'	Sham 60'	Isquemia	Isquemia+ Reperfusão
CaCa	0,223 \pm 0,013 (0,19; 0,26)	0,251 \pm 0,015 (0,21; 0,29)	0,128 \pm 0,014 (0,09; 0,16)	0,122 \pm 0,025 (0,06; 0,19)	0,156 \pm 0,017 (0,11; 0,20)
OKG	0,188 \pm 0,017 (0,15; 0,23)	0,174 \pm 0,020 (0,12; 0,23)	0,238 \pm 0,017 (0,19; 0,28)	0,099 \pm 0,049 (-0,03; 0,23)	0,101 \pm 0,024 (0,04; 0,16)
Total	0,21 \pm 0,01 (0,18; 0,23)	0,21 \pm 0,02 (0,18; 0,25)	0,18 \pm 0,02 (0,14; 0,23)	0,11 \pm 0,03 (0,05; 0,17)	0,13 \pm 0,02 (0,09; 0,16)
Prob > t	0,1239	0,013	0,0006	0,6970	0,0944

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM)

Resultados expressos entre parentes indicam o Intervalo de Confiança (IC) com 95% de confiança (IC 95%) para a média pelo teste t de Student.

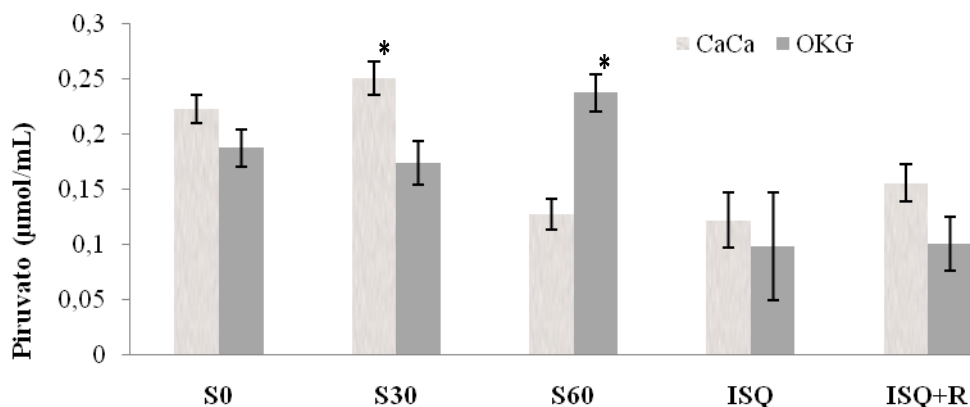


Gráfico 5 – Concentração da piruvato plasmático na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30' e I/R 30'.

Na tabela 6 e gráfico 6 estão os valores médios do piruvato tecidual ($\mu\text{mol/g}$). A concentração do piruvato tecidual não diferiu nos grupos s0' e s30'. Apresentou variação estatisticamente significante ($p < 0,05$) nos grupos s60', i30' e no r30'OKG. Redução significativa no r30'OKG.

Tabela 6 - Concentração da piruvato tecidual na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30' e I/R 30'.

Subgrupos	Piruvato intestino ($\mu\text{mol/g}$)				
	Sham 0	Sham 30'	Sham 60'	Isquemia	Reperusão
CaCa	0,107 \pm 0,03 (0,04; 0,17)	0,184 \pm 0,02 (0,14; 0,23)	0,109 \pm 0,014 (0,07; 0,15)	0,163 \pm 0,02 (0,12; 0,21)	0,248 \pm 0,03 (0,16; 0,33)
OKG	0,073 \pm 0,02 (0,03; 0,11)	0,218 \pm 0,02 (0,16; 0,27)	0,236 \pm 0,01 (0,22; 0,25)	0,222 \pm 0,015 (0,18; 0,26)	0,094 \pm 0,02 (0,03; 0,15)
Total	0,09 \pm 0,01 (0,06; 0,12)	0,20 \pm 0,01 (0,17; 0,23)	0,17 \pm 0,02 (0,13; 0,22)	0,19 \pm 0,02 (0,16; 0,22)	0,17 \pm 0,03 (0,10; 0,24)
Prob > t	0,2922	0,2525	0,0001	0,0317	0,0035

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM)

Resultados expressos entre parentes indicam o Intervalo de Confiança (IC) com 95% de confiança (IC 95%) para a média pelo teste t de Student (Variâncias heterogêneas).

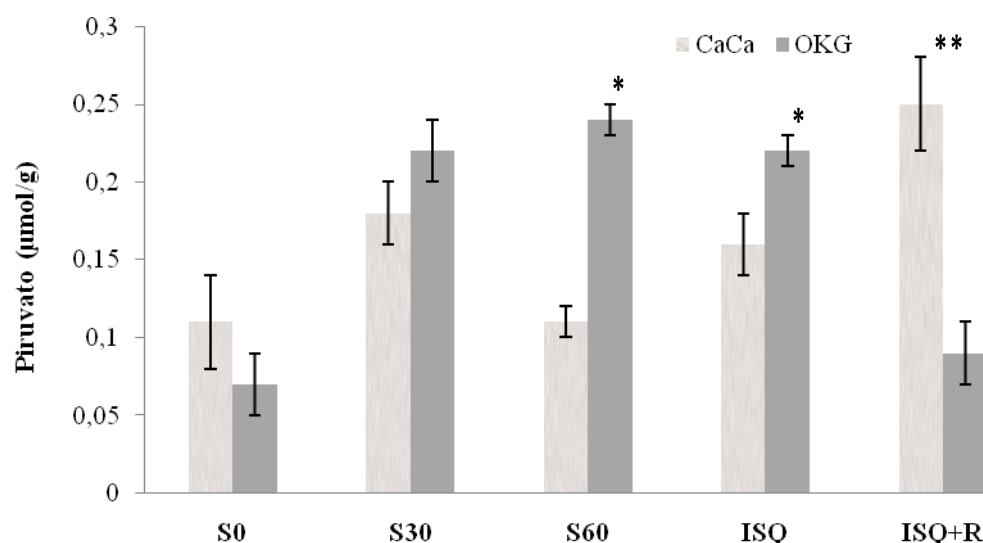


Gráfico 6 – Concentração da piruvato tecidual na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30' e I/R 30'.

Na tabela 7 e gráfico 7 estão os valores médios da CPK plasma (UI/L). Houve variação da CPK plasmática em todos os grupos quando comparados os animais tratados e controle, exceto no i30'. Ocorreu redução, com diferença estatisticamente sigficante ($p < 0,05$) nos animais tratados nos grupos s0'OKG, s30'OKG, s60'OKG e r30'OKG em comparação aos animais controle.

Tabela 7 - Concentração da CPK plasma na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30' e I/R 30'.

Subgrupos	CPK plasma (UI/L)				
	Sham 0	Sham 30'	Sham 60'	Isquemia	Reperusão
CaCa	155,32±9,83 (130,06; 180,57)	178,82±5,06 (165,82; 191,82)	181,01±6,13 (165,26; 196,76)	99,03±5,74 (84,28; 113,79)	166,70±6,53 (149; 183,48)
OKG	126,61±5,37 (112,82; 140,40)	128,84±13,23 (94,83; 162,84)	127,08±13,12 (93,36; 160,80)	122,03±14,49 (84,79; 159,27)	115,13±11,77 (84,88; 145,39)
Total	140,96±6,87 (125,84; 156,09)	153,83±10,12 (131,56; 176,10)	154,04±10,67 (130,57; 177,52)	110,53±8,20 (92,49; 128,58)	140,92±10,08 (118,73; 163,10)
Prob > t	0,0343	0,011	0,0073	0,1708	0,0052

Resultados expressos através da média ± erro padrão da média (média ± EPM)

Resultados expressos entre subgrupos indicam o Intervalo de Confiança de 95% (IC 95%) para a média pelo teste t de Student.

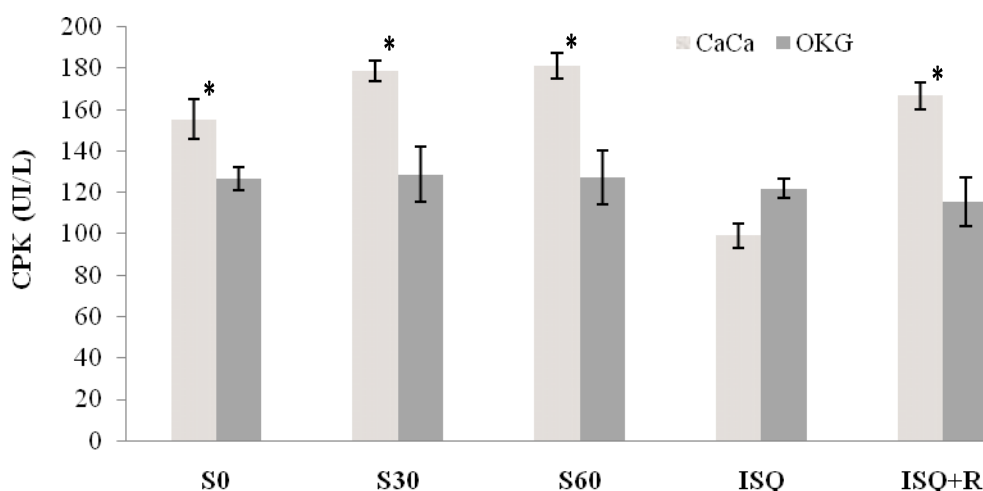


Gráfico 7 – Concentração da CPK plasma na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30' e I/R 30'.

Na tabela 8 e gráfico 8 estão os valores médios da LDH enzimática (UI/L) nos grupos, s0', s30', s60', i30', r30' OKG e CaCa. Houve variação significativa ($p < 0,05$) intragrupos no s0', s30' e i30', com elevação significativa nos subgrupos s0'OKG e i30'OKG.

Tabela 8 - Concentração da LDH enzimática na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30' e I/R 30'.

Subgrupos	LDH enzimática (UI/L)				
	Sham 0	Sham 30'	Sham 60'	Isquemia	Isquemia+ Reperusão
CaCa	171,64±17,33 (127,09; 216,20)	423,11±63,10 (260,90; 585,31)	239,68±27,06 (170,11; 309,25)	132,93±12,54 (100,70; 165,16)	356,21±42,46 (247,05; 465,36)
OKG	373,85±60,26 (218,95; 528,75)	137,412±10,35 (110,81; 164,01)	266,94±24,45 (204,09; 329,79)	278,01±51,52 (145,57; 410,45)	294,04±26,08 (227,00; 361,09)
Total	272,75±42,69 (178,77;366,72)	280,26±52,77 (164,12; 396,40)	253,31±17,87 (213,98; 292,63)	205,47±33,45 (131,90; 279,04)	325,12±25,54 (268,92; 381,33)
Prob > t	0,0188	0,0058	0,4723	0,0365	0,2463

Resultados expressos em Média ± Erro Padrão da Média (EPM) Resultados expressos entre subgrupos. Indicam o Intervalo de Confiança de 95% (IC 95%) para a média pelo teste t de Student. (Variâncias heterogêneas)

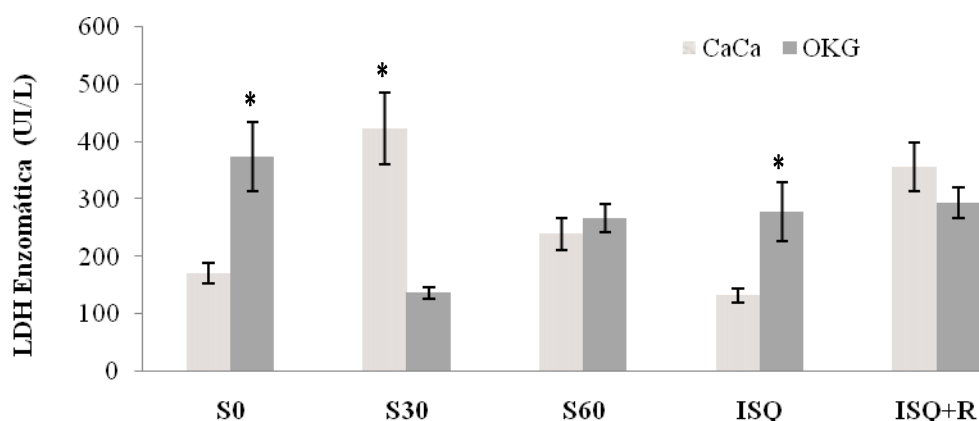


Gráfico 8 – Concentração da LDH enzimática na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30' e I/R 30'.

Na tabela 9 e gráfico 9 estão os valores médios do lactato plasma ($\mu\text{mol/mL}$) nos grupos, s0', s 30', s 60', i30', r30'. Houve variação na concentração do piruvato plasmático na análise intragrupos, sem apresentar diferença estatisticamente significativa ($p>0,05$).

Tabela 9 - Concentração do lactato plasma na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30' e I/R 30'.

Subgrupos	Grupo lactato plasma ($\mu\text{mol/mL}$)				
	Sham 0	Sham 30'	Sham 60'	Isquemia	Isquemia+ Reperusão
CaCa	0,093 \pm 0,019 (0,05; 0,14)	0,344 \pm 0,03 (0,26; 0,43)	0,775 \pm 0,11 (0,50; 1,05)	0,794 \pm 0,06 (0,63; 0,95)	0,499 \pm 0,11 (0,23; 0,77)
OKG	0,116 \pm 0,007 (0,10; 0,13)	0,501 \pm 0,08 (0,29; 0,71)	0,460 \pm 0,03 (0,38; 0,54)	1,186 \pm 0,18 (0,72; 1,66)	0,723 \pm 0,05 (0,59; 0,86)
Total	0,10 \pm 0,01 (0,08; 0,13)	0,42 \pm 0,05 (0,32; 0,53)	0,62 \pm 0,07 (0,46; 0,77)	0,99 \pm 0,11 (0,75; 1,23)	0,61 \pm 0,07 (0,47; 0,76)
Prob > t	0,275	0,1007	0,0807	0,0872	0,096

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM)

Resultados expressos entre parentes indicam o Intervalo de Confiança (IC) de 95% (IC 95%) para a média pelo teste t de Student (Variâncias heterogêneas).

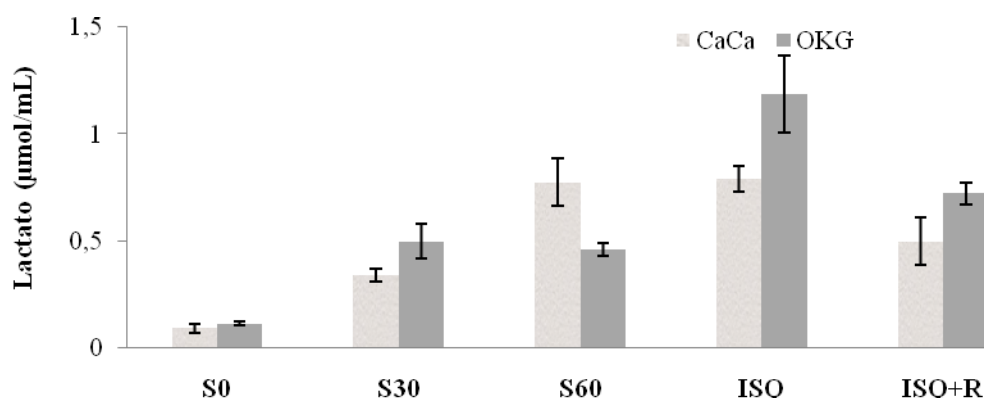


Gráfico 9 – Concentração da lactato plasmanos do lactato plasma na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30' e I/R 30'.

Na tabela 10 e gráfico 10 estão os valores médios da lactato tecidual ($\mu\text{mol/g}$) nos grupos, s0', s30', s60', i30', r30' OKG e CaCa. Houve variação significativa da concentração do piruvato tecidual na comparação intragrupos no s0', s30' e s60', com redução significativa ($p < 0,05$) no r30'OKG quando comparados aos animais controle.

Tabela 10 - Concentração da lactato tecidual na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30' e I/R 30'.

Subgrupos	Grupo lactato plasma ($\mu\text{mol/g}$)				
	Sham 0	Sham 30'	Sham 60'	Isquemia	Isquemia+ Reperusão
CaCa	0,436 \pm 0,06 (0,27; 0,60)	0,297 \pm 0,03 (0,21; 0,38)	1,138 \pm 0,13 (0,82; 1,46)	0,172 \pm 0,04 (0,06; 0,28)	0,266 \pm 0,02 (0,21; 0,32)
OKG	1,383 \pm 0,02 (1,34; 1,43)	0,609 \pm 0,05 (0,47; 0,75)	0,438 \pm 0,04 (0,33; 0,55)	0,293 \pm 0,09 (0,06; 0,53)	0,107 \pm 0,01 (0,09; 0,12)
Total	0,91 \pm 0,15 (0,59; 1,23)	0,45 \pm 0,06 (0,33; 0,58)	0,79 \pm 0,12 (0,52; 1,06)	0,19 \pm 0,03 (0,13; 0,24)	0,14 \pm 0,02 (0,09; 0,19)
Prob > t	0,0001	0,0011	0,0018	0,2557	0,0006

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM)

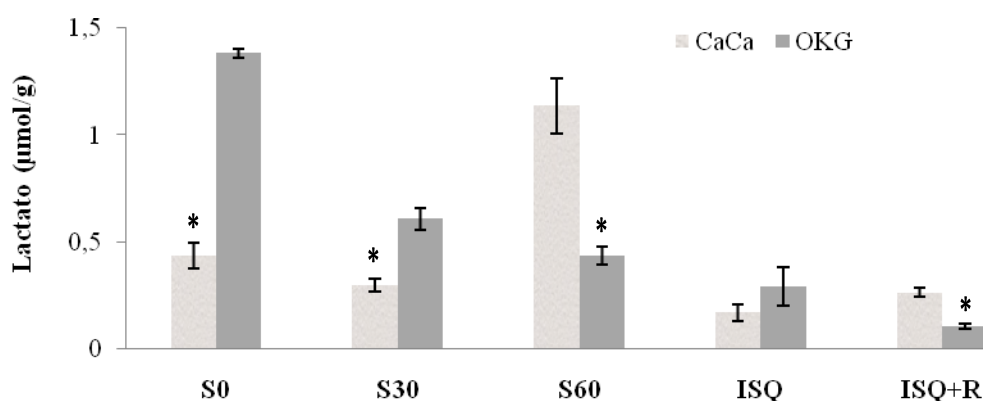


Gráfico 10 – Concentração da lactato intestinal e da lactato tecidual na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30' e I/R 30'.

Na tabela 11 e gráfico 11 estão os valores médios da 3HBDH plasma ($\mu\text{mol/mL}$). Houve variação na análise das concentrações da 3HBDH plasmática intragrupos, com redução estatisticamente significativa ($p < 0,05$) no s60' e r30'OKG quando comparados aos animais controle.

Tabela 11 - Concentração da 3HBDH plasma na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30' e I/R 30'.

Subgrupos	3HBDH plasma ($\mu\text{mol/mL}$)				
	Sham 0	Sham 30'	Sham 60'	Isquemia	Reperusão
CaCa	0,059 \pm 0,014 (0,02; 0,09)	0,083 \pm 0,01 (0,04; 0,12)	0,094 \pm 0,02 (0,03; 0,16)	0,051 \pm 0,09 (0,03; 0,07)	0,062 \pm 0,01 (0,04; 0,09)
OKG	0,075 \pm 0,01 (0,04; 0,11)	0,060 \pm 0,01 (0,04; 0,08)	0,020 \pm 0,01 (0,00; 0,03)	0,043 \pm 0,06 (0,03; 0,06)	0,03 \pm 0,00 (0,02; 0,04)
Total	0,07 \pm 0,01 (0,05; 0,09)	0,07 \pm 0,01 (0,05; 0,09)	0,06 \pm 0,02 (0,02; 0,09)	0,05 \pm 0,01 (0,04; 0,06)	0,04 \pm 0,01 (0,03; 0,06)
Prob > t	0,4391	0,2160	0,0302	0,4356	0,0133

Resultados expressos em Média \pm Erro padrão da Média (EPM)

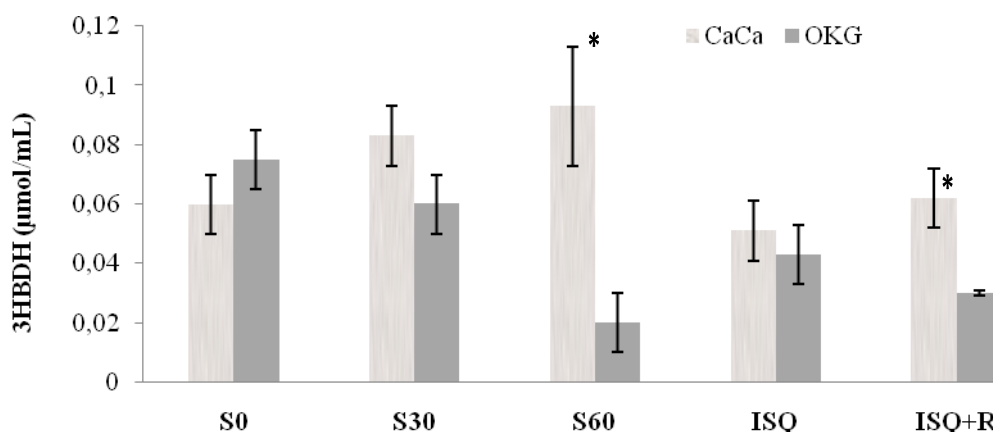


Gráfico 11 – Concentração da 3HBDH plasma na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30' e I/R 30'.

Na tabela 12 e gráfico 12 estão os valores médios da concentração de 3HBDH tecidual ($\mu\text{mol/g}$) nos grupos, s0', s30', s60', i30', e r30' OKG e CaCa. Houve variação significativa ($p < 0,05$) no grupo s30'.

Tabela 12 - Concentração de 3HBDH tecidual na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30' e I/R 30'.

Subgrupos	3HBDH intestino ($\mu\text{mol/g}$)				
	Sham 0	Sham 30'	Sham 60'	Isquemia	Reperusão
CaCa	0,075 \pm 0,011 (0,04; 0,10)	0,043 \pm 0,01 (0,02; 0,07)	0,095 \pm 0,02 (0,04; 0,15)	0,095 \pm 0,02 (0,04; 0,05)	0,045 \pm 0,003 (0,04; 0,07)
OKG	0,062 \pm 0,011 (0,03; 0,09)	0,103 \pm 0,01 (0,09; 0,12)	0,064 \pm 0,01 (0,04; 0,08)	0,064 \pm 0,01 (0,02; 0,04)	0,032 \pm 0,005 (0,04; 0,07)
Total	0,07 \pm 0,01 (0,05; 0,09)	0,07 \pm 0,01 (0,05; 0,10)	0,08 \pm 0,01 (0,05; 0,11)	0,04 \pm 0,00 (0,03; 0,05)	0,05 \pm 0,00 (0,05; 0,06)
Prob > t	0,4544	0,0008	0,2085	0,2085	0,0615

Resultados expressos em Média \pm Erro padrão da Média (EPM)

Resultados expressos entre parentes indicam o Intervalo de Confiança (IC) com 95% de confiança (IC 95%) para a média pelo teste t de Student.

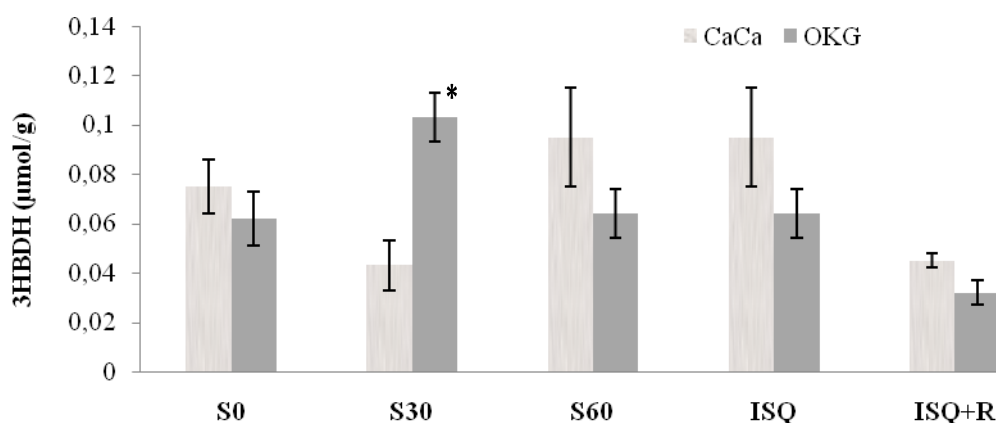


Gráfico 12 – Concentração da 3HBDH tecidual de 3HBDH tecidual na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30' e I/R 30'.

Na tabela 13 e gráfico 13 estão os valores médios da mieliperoxidase tecidual ($\mu\text{mol/g}$) nos grupos, s0', s30', s60', i30' e r30' okg e CaCa. Não houve variação significativa ($p > 0,05$) na comparação intragrupos.

Tabela 13 - Concentração da mieliperoxidase tecidual na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30' e I/R 30'.

Subgrupos	MDA-Mieliperoxidase plasma ($\mu\text{mol/g}$)				
	Sham 0	Sham 30'	Sham 60'	Isquemia	Reperfusão
CaCa	0,756 \pm 0,095 (0,51; 1,00)	3,561 \pm 0,456 (2,39; 4,73)	1,982 \pm 0,271 (1,29; 2,68)	0,191 \pm 0,02 (0,14; 0,24)	0,210 \pm 0,01 (0,18; 0,24)
OKG	0,77 \pm 0,041 (0,66; 0,87)	3,859 \pm 0,104 (3,59; 4,13)	1,782 \pm 0,261 (1,11; 2,45)	0,395 \pm 0,14 (0,03; 0,76)	0,277 \pm 0,03 (0,18; 0,24)
Total	0,756 \pm 0,05 (0,65; 0,87)	3,71 \pm 0,23 (3,21; 4,21)	1,88 \pm 0,18 (1,48; 2,28)	0,29 \pm 0,07 (0,13; 0,46)	0,28 \pm 0,02 (0,21; 0,28)
Prob > t	0,9071	0,5489	0,6073	0,2086	0,0560

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM)

Resultados expressos entre parentes indicam o Intervalo de Confiança (IC) com 95% de confiança (IC 95%) para a média pelo teste t de Student (Variâncias heterogêneas).

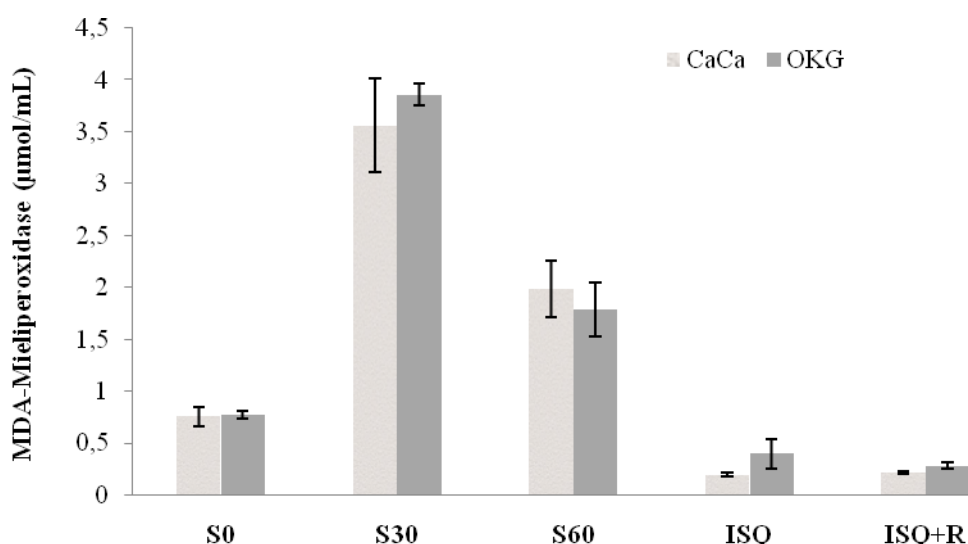


Gráfico 13 – Concentração da MPO-Mieliperoxidase tecidual da mieliperoxidase tecidual na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30' e I/R 30'.

Na tabela 14 e gráfico 14 estão os valores médios na avaliação intra grupos da concentração do T-Bars plasmático ($\mu\text{mol/mL}$) nos grupos, s0', s30', s60', i30' e r30' okg e Ca-Ca. Não houve significância na comparação intragrupos ($p > 0,05$).

Tabela 14 - Concentração do T-Bars plasmático na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30' e I/R 30'.

Subgrupos	Grupo TBARS plasma ($\mu\text{mol/mL}$)				
	Sham 0	Sham 30'	Sham 60'	Isquemia	Reperfusão
CaCa	0,011 \pm 0,005 (-0,02; 0,02)	0,017 \pm 0,004 (0,01; 0,03)	0,018 \pm 0,005 (0,01; 0,03)	0,027 \pm 0,004 (0,02; 0,04)	0,028 \pm 0,01 (0,00; 0,06)
OKG	0,003 \pm 0,001 (0,001; ,004)	0,011 \pm 0,004 (0,00; 0,02)	0,036 \pm 0,011 (0,01; 0,06)	0,03 \pm 0,011 (0,00; 0,06)	0,0243 \pm 0,006 (0,01; 0,04)
Total	0,018 \pm 0,00 (0,00; 0,01)	0,011 \pm 0,004 (0,01; 0,02)	0,036 \pm 0,011 (0,01; 0,04)	0,03 \pm 0,01 (0,02; 0,04)	0,03 \pm 0,01 (0,01; 0,04)
Prob > t	0,1940	0,3140	0,1789	0,7897	0,7158

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM)

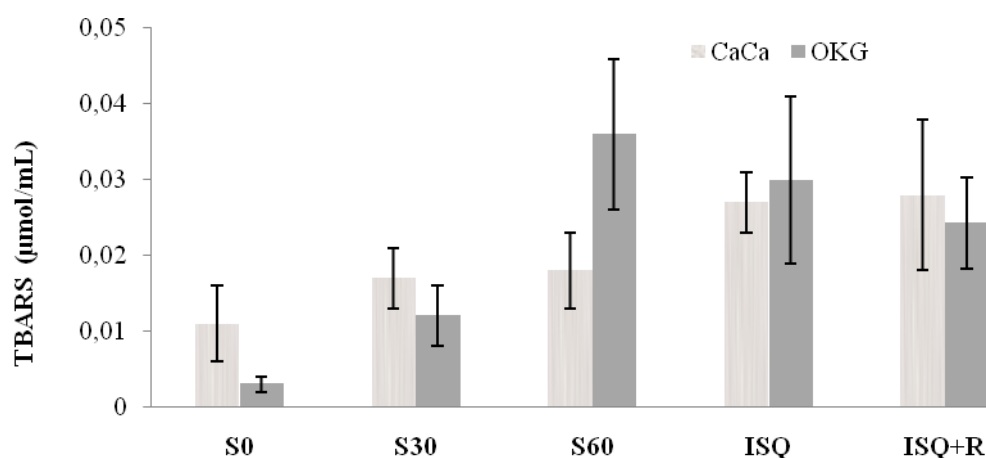


Gráfico 14 – Concentração do T-Bars plasmático na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30' e I/R 30'.

Na tabela 15 e gráfico 15 estão os valores médios da concentração do T-Bars tecidual ($\mu\text{mol/g}$) nos grupos, s0', s30', s60', i30' e r30' OKG e CaCa. Houve variação com significância estatística ($p < 0,05$) nos grupos s0', s30' e i30'.

Tabela 15 - Concentração do T-Bars tecidual na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', I/R CaCa e OKG.

Subgrupos	TBARS tecidual ($\mu\text{mol/g}$)				
	Sham 0	Sham 30'	Sham 60'	Isquemia	Reperfusão
CaCa	0,011 \pm 0,002 (0,01; 0,02)	0,006 \pm 0,002 (0,00; 0,01)	0,003 \pm 0,0014 (0,00; 0,01)	0,022 \pm 0,001 (0,02; 0,03)	0,075 \pm 0,02 (0,01; 0,14)
OKG	0,003 \pm 0,001 (0,00; 0,01)	0,001 \pm 0,0003 (0,00; 0,00)	0,003 \pm 0,0014 (0,00; 0,01)	0,043 \pm 0,008 (0,02; 0,06)	0,052 \pm 0,03 (0,02; 0,12)
Total	0,01 \pm 0,002 (0,00; 0,01)	0,01 \pm 0,001 (0,00; 0,01)	0,001 \pm 0,001 (0,00; 0,003)	0,03 \pm 0,001 (0,02; 0,04)	0,06 \pm 0,02 (0,02; 0,10)
Prob > t	0,0037	0,0326	0,7970	0,0453	0,5511

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM)

Resultados expressos entre parentes indicam o Intervalo de Confiança (IC) com 95% de confiança (IC 95%) para a média pelo teste t de Student (Variâncias heterogêneas).

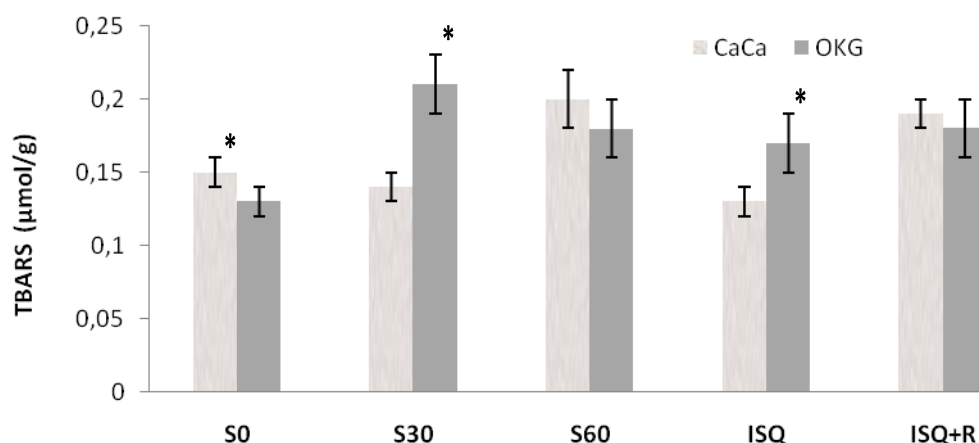


Gráfico 15 – Concentração do T-Bars tecidual na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30' e I/R 30'.

Na tabela 16 e gráfico 16 estão os valores médios da concentração da glicose plasma ($\mu\text{mol/ml}$) nos grupos, s0', s30', s60', i30' e r30' okg e CaCa. Na valiação intragrupos apresentou variação significativa apenas no s30, $p < 0,05$. Houve elevação da concentração de glicose com diferença estatisticamente significante ($p < 0,05$) apenas no s30'OKG em relação ao controle. Nas demais comparações intragrupos não ocorreu diferença significante.

Tabela 16 - Concentração da glicose plasma na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30' e I/R 30'.

Subgrupos	Glicose plasma ($\mu\text{mol/ml}$)				
	Sham 0	Sham 30'	Sham 60'	Isquemia	Reperusão
CaCa	150,92 \pm 13,36 (119,58;185,26)	138,56 \pm 8,68 (116,24;160,87)	199,31 \pm 17,05 (155,48;243,13)	131,75 \pm 11,46 (102,27;161,22)	185,36 \pm 14,63 (147,76;222,95)
OKG	132,25 \pm 14,28 (95,54; 168,97)	205,65 \pm 15,04 (166,99;244,32)	182,89 \pm 19,98 (131,53;234,25)	165,06 \pm 15,55 (125,08;205,04)	183,69 \pm 16,38 (0,14; 0,23)
Total	141,59 \pm 9,74 (120,15;163,02)	172,11 \pm 13,07 (143,34;200,88)	191,10 \pm 12,76 (163,01;19,19)	148,40 \pm 10,49(1 25,31; 171,49)	184,53 \pm 10,47 (161,48;207,58)
Prob > t	0,3624	0,0048	0,5463	0,1181	0,9413

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM)

Resultados expressos entre parentes indicam o Intervalo de Confiança (IC) com 95% de confiança (IC 95%) para a média pelo teste t de Student.

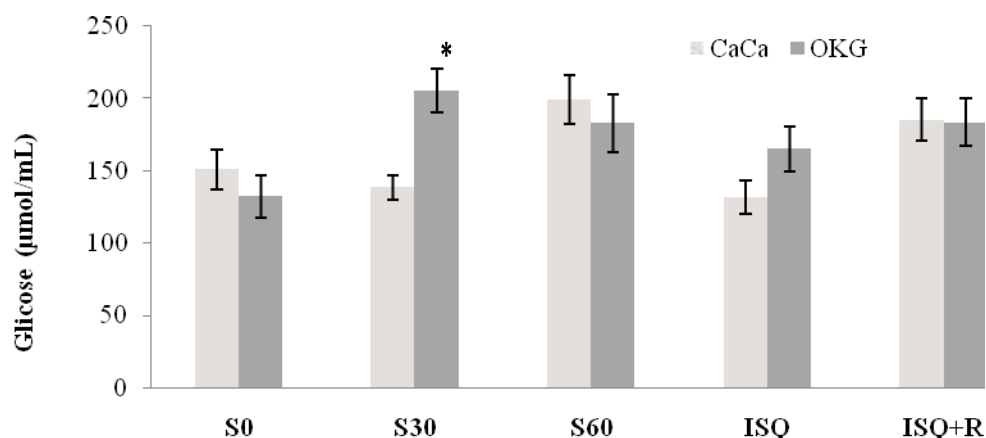


Gráfico 16 – Concentração da glicose plasma na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30' e I/R 30'.

Na tabela 17 e gráfico 17 estão os valores médios da glicose 6HPDH ($\mu\text{mol/mL}$) nos grupos, Sham 0, Sham 30', Sham 60', Isquemia e Isquemia mais reperusão nos subgrupos, caseinato de cálcio (CaCa) e alfa cetogluturato (okg). Houve variação significativa ($p < 0,05$) no s60, i30' e r30'. Maior elevação, com significância estatística no r30'OKG, $p < 0,05$. Houve elevação com diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) na concentração da glicose 6PDH na intra grupos do s60'OKG, i30' CaCa e r30'OKG. Não houve diferença entre os subgrupos do s0' e s30' ($p > 0,05$).

Tabela 17 - Concentração da glicose 6HPDH plasma na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30' e I/R 30'.

Subgrupos	Grupo Glicose 6HPDH ($\mu\text{mol/mL}$)				
	Sham 0	Sham 30'	Sham 60'	Isquemia	Isquemia+ Reperusão
CaCa	0,1173 \pm 0,0085 (0,10; 0,14)	0,4672 \pm 0,1229 (0,15; 0,78)	0,185 \pm 0,0136 (0,15; 0,22)	1,1098 \pm 0,0796 (0,91; 1,31)	0,3118 \pm 0,024 (0,25; 0,37)
OKG	0,1298 \pm 0,021 (0,08; 0,18)	0,582 \pm 0,102 (0,32; 0,84)	0,374 \pm 0,0182 (0,33; 0,42)	0,1442 \pm 0,048 (0,04; 0,25)	0,7967 \pm 0,1098 (0,51; 1,08)
Total	0,124 \pm 0,01 (0,10; 0,15)	0,525 \pm 0,08 (0,39; 0,7)	0,28 \pm 0,03 (0,21; 0,35)	0,627 \pm 0,15 (0,29; 0,96)	0,554 \pm 0,09 (0,35; 0,75)
Prob > t	0,5937	0,4885	0,0001	0,0001	0,0062

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM)

Resultados expressos entre parentes indicam o Intervalo de Confiança (IC) com 95% de confiança (IC 95%) para a média pelo teste t de Student.

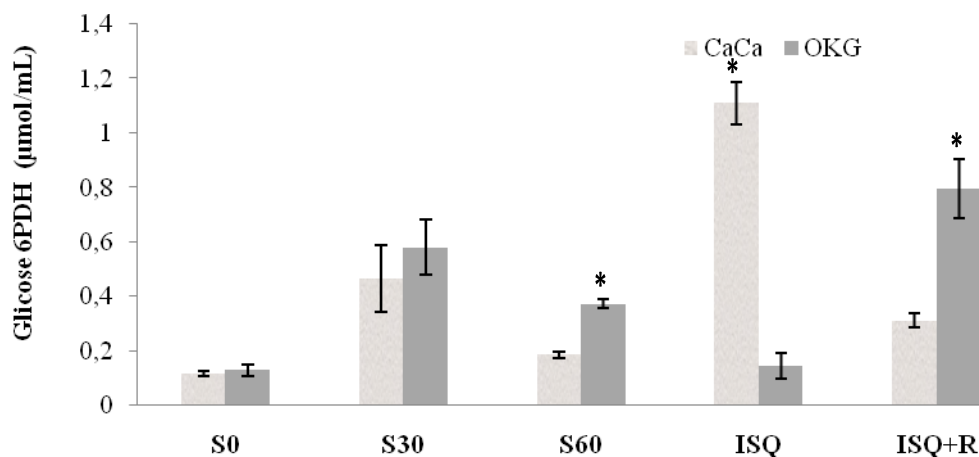


Gráfico 17 – Concentração da glicose 6PDH plasma na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30' e I/R 30'.

Na tabela 18 e gráfico 18 estão os valores médios da glicose 6HPDH intestino ($\mu\text{mol/g}$) nos grupos s0', s30', s60', i30' e r30' okg e CaCa. Houve variação na concentração da glicose 6PDH na análise intra grupos, com elevação estatisticamente significativa ($p < 0,05$) no s0'CaCa, s30'OKG e s60'OKG. As demais análises intragrupos i30' e r30' foram significantes ($p > 0,05$).

Tabela 18 - Concentração da glicose 6HPDH intestino na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30' e I/R 30'.

Subgrupos	Glicose 6HPDH intestino ($\mu\text{mol/g}$)				
	Sham 0	Sham 30'	Sham 60'	Isquemia	Reperfusão
CaCa	0,777 \pm 0,11 (0,49; 1,06)	0,2022 \pm 0,037 (0,11; 0,30)	0,123 \pm 0,0101 (0,10; 0,15)	0,147 \pm 0,0264 (0,08; 0,21)	0,3015 \pm 0,0323 (0,22; 0,38)
OKG	0,1667 \pm 0,009 (0,14; 0,19)	1,1897 \pm 0,071 (1,01; 1,37)	0,361 \pm 0,0169 (0,32; 0,40)	0,1002 \pm 0,02 (0,05; 0,15)	0,2132 \pm 0,027 (0,15; 0,28)
Total	0,47 \pm 0,11 (0,24; 0,71)	0,70 \pm 0,15 (0,36; 1,03)	0,24 \pm 0,04 (0,16; 0,32)	0,12 \pm 0,02 (0,08; 0,16)	0,26 \pm 0,02 (0,20; 0,31)
Prob > t	0,0025	0,0001	0,0001	0,1965	0,0614

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM)

Resultados expressos entre parentes indicam o Intervalo de Confiança (IC) com 95% de confiança (IC 95%) para a média pelo teste t de Student.

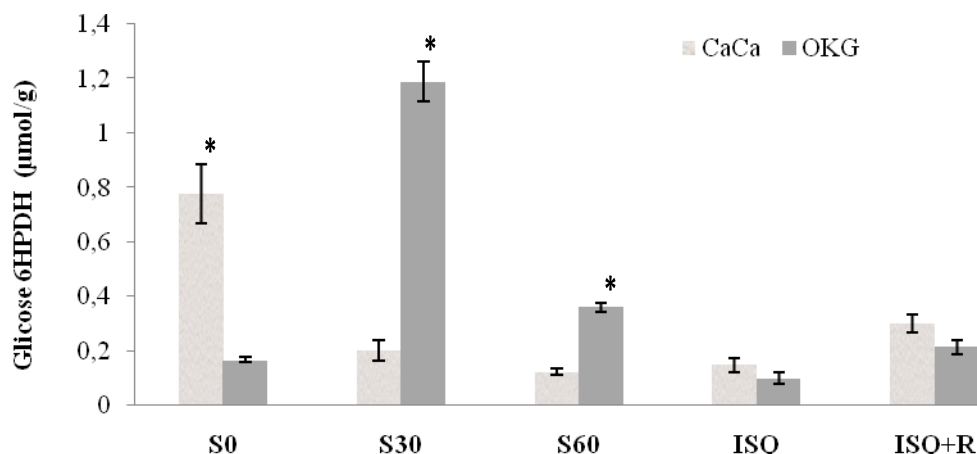


Gráfico 18 – Concentração da glicose 6HPDH intestino na análise intragrupos nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60', Isq 30' e I/R 30'.

4.2 Efeitos do procedimento cirúrgico sobre os parâmetros do grupo Sham 0', 30', 60' OKG e CaCa das análises intergrupos

Na tabela 19 e gráfico 19 estão os valores médios da concentração CPK plasmática ($\mu\text{mol/mL}$), nos grupos, s0', s30', s60' $p < 0,05$ (comparando CaCa do s0', com o s30' e s60' que não diferiram entre si. Analisados pela ANOVA e comparação de médias pelo teste t de Student.

A concentração da CPK plasmática, não apresentou variação significativa na sua concentração no s0', s30' e s60' OKG quando comparados entre si. Houve elevação com diferença significativa ($p < 0,05$) no s0' CaCa quando comparado ao s30' e s60' CaCa que não diferiram entre si. A diferença foi estatisticamente significativa.

Tabela 19 - Concentração de CPK plasmática ($\mu\text{mol/mL}$) das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.

	Sham 0'	Sham 30'	Sham 60'
CaCa	155,32 \pm 9,83*	178,82 \pm 5,06	181,01 \pm 6,13
OKG	126,61 \pm 5,37	128,84 \pm 13,23	127,08 \pm 13,12
Prob > t	0,0343	0,011	0,0073

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM). * $p < 0,05$ (comparando O Sham 0' CaCa com o Sham 30' e 60' que não diferiram entre si. Analisados pela ANOVA e comparação de médias pelo teste t de Student.

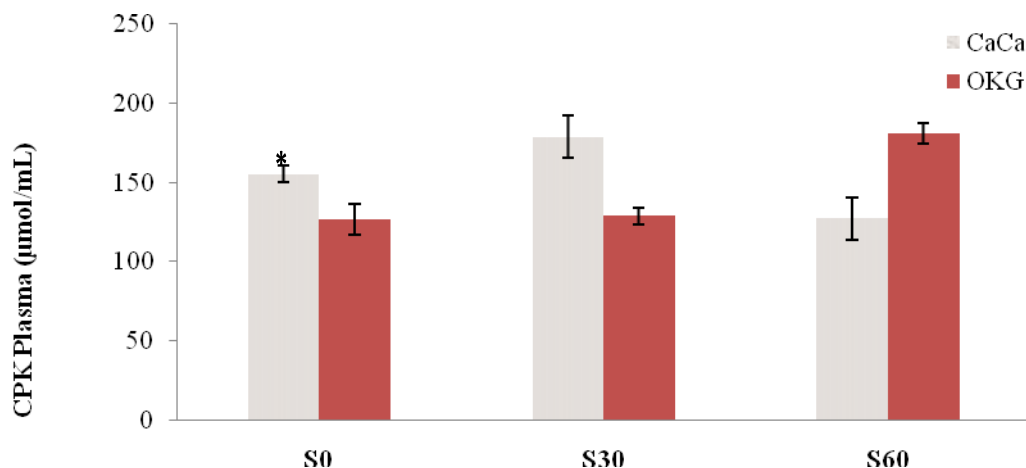


Gráfico 19 – Concentração de CPK plasmática das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.

Na tabela 20 e gráfico 20 estão os valores médios da concentração do LDH enzimática apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) na análise inter subgrupos do s0', s30' e s60' OKG e CaCa, Na análise inter grupos a diferença foi significativa no s0' e s30' ($p < 0,05$).

Tabela 20 - Concentração da LDH enzimática (UI/L) das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.

	Sham 0	Sham 30'	Sham 60'
CaCa	171,64±17,33**	423,11±63,10**	239,68±27,06**
OKG	373,85±60,26**	137,412±10,35**	266,94±24,45**
Prob > t	0,0188	0,0058	0,4723

Resultados expressos em Média ± Erro Padrão da Média (EPM). ** $p < 0,01$ (comparando os subgrupos Sham 0, Sham 30' e Sham 60' CaCa. ** $p < 0,01$ (comparando os subgrupos : Sham 0', Sham 30' e Sham 60' OKG pelo teste de Kruskal-Wallis.

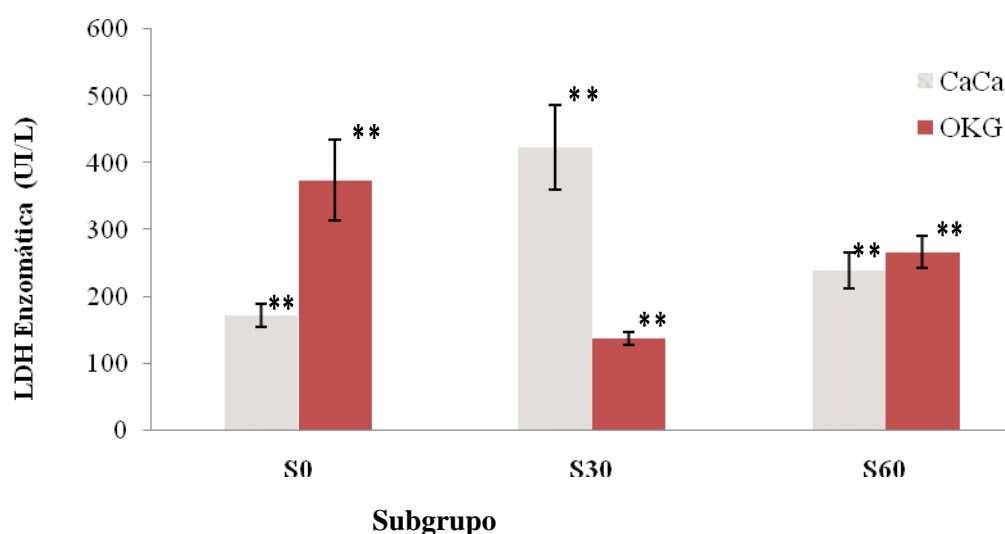


Gráfico 20 – Concentração da LDH enzimática das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'

Na tabela 21 e gráfico 21 estão os valores médios glicose plasmática ($\mu\text{mol/ml}$) nos grupos, s0', s30' e s60' dos animais teste e controle. Análise intergrupos OKG e CaCa. A estimativa média da concentração da glicose plasmática nos grupos s0', s30' e s60'OKG apresentou variação significantes ($p < 0,05$) quando comparados entre si. Nos animais controle a concentração foi equivalente pelo teste t de Student pareado, com variância heterogêneas. $p < 0,05$ entre s30'CaCa e s30'OKG. Pelo que se pode observar no gráfico 21, verifica-se que houve presença de elevação com diferença significativa $p < 0,05$ quando comparados entre se os subgrupos tratados pelo teste de Kruskal-Wallis. A diferença significativa intragrupo ($p < 0,05$) ocorreu no s30'.

Tabela 21 - Concentração da glicose plasmática ($\mu\text{mol/mL}$) das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.

	Sham 0	Sham 30'	Sham 60'
CaCa	150,92 \pm 13,36	138,56 \pm 8,69	199,31 \pm 17,05
OKG	132,25 \pm 14,28*	205,65 \pm 15,04*	182,89 \pm 19,98*
Prob > t	0,3624	0,0048	0,5463

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM). * $p < 0,05$ (comparando os Grupos: Sham 0', Sham 30' e Sham 60'okg pelo teste de Kruskal-Wallis).

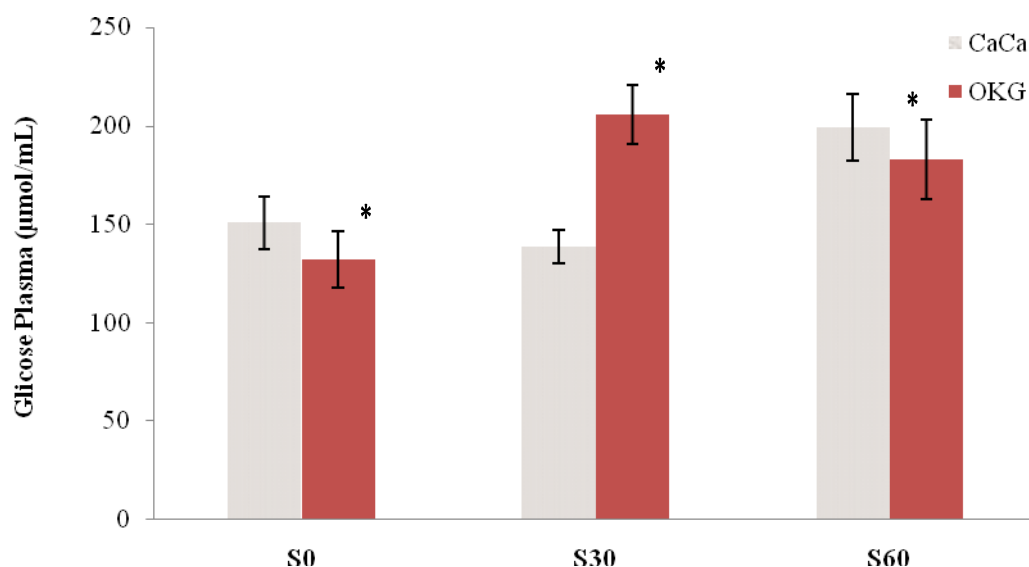


Gráfico 21 – Concentração da glicose plasmática ($\mu\text{mol/mL}$) das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'

Na tabela 22 e gráfico 22 estão os valores médios da concentração da glicose plasmática 6HPDH ($\mu\text{mol/ml}$) no s0', s30' e s60'OKG e CaCa. Na análise intergrupos a diferença foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$) no s30'CaCa em relação ao s30' e s60'CaCa, que não diferiram entre si ($p > 0,05$). Houve diferença significativa ($p < 0,05$) no s0'OKG em relação ao

s30' e s60'OKG, que não foram estatisticamente diferentes entre si ($p > 0,05$). Analisados pela ANOVA e comparação de médias pelo teste t de Student.

Tabela 22 - Concentração da glicose plasmática 6HPDH ($\mu\text{mol/mL}$) das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.

	Sham 0	Sham 30'	Sham 60'
CaCa	0,1173 \pm 0,0085	0,4672 \pm 0,1229*	0,185 \pm 0,0136
OKG	0,1298 \pm 0,021*	0,582 \pm 0,102	0,1442 \pm 0,048
Prob > t	0,3624	0,0048	0,5463

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM). * $p < 0,05$ (comparando o s30'CaCa com o s0' e s60'). * $p < 0,05$ (comparando OKG do s0' com o s30' e s60'). Analisados pela ANOVA e comparação de médias pelo teste t de Student.

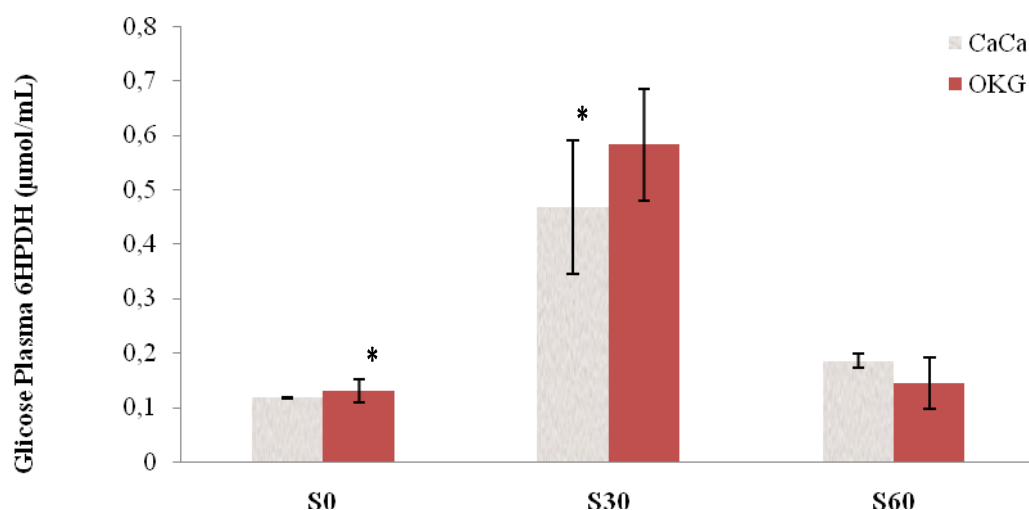


Gráfico 22 – Concentração da glicose plasma 6HPDH das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'

Na tabela 23 e gráfico 23 estão os valores médios da concentração da glicose 6HPDH tecidual ($\mu\text{mol/mL}$). Na análise intergrupos apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) no s30'. Maior elevação no s30'OKG e s60'OKG que diferiram entre si.

Tabela 23 - Concentração da 6HPDH tecidual ($\mu\text{mol/mL}$) das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.

	Sham 0	Sham 30'	Sham 60'
CaCa	0,777 \pm 0,11*	0,2022 \pm 0,037	0,123 \pm 0,0101
OKG	0,1667 \pm 0,009**	1,1897 \pm 0,071**	0,361 \pm 0,0169**
Prob > t	0,3624	0,0048	0,5463

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM). * $P < 0,05$ (comparando o s0'CaCa com o s30' e s60' CaCa. ** $p < 0,01$ (comparando o s0'OKG com o s30' e s60'OKG. Analisados pela ANOVA e comparação de médias pelo teste t de Student.

A menor estimativa média da concentração da glicose 6PDH tecidual foi observada no s0'OKG, que evidenciou em termos probabilísticos diferenças significativas ao nível de 5% de probabilidade para s60' e s30'OKG. Analisados pela ANOVA e comparação de médias pelo teste t de Student.

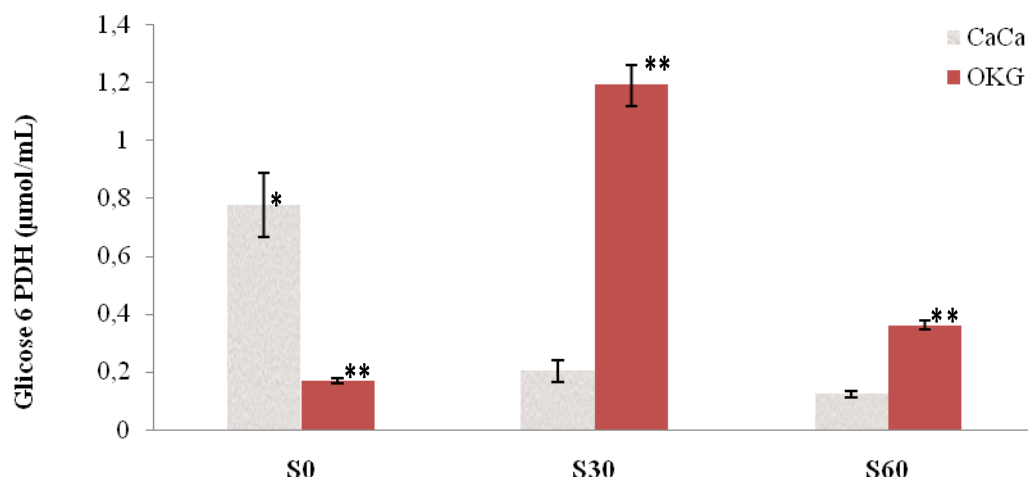


Gráfico 23 – Concentração da glicose 6HPDH intestinal das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'

Na tabela 24 e gráfico 24 estão os valores médios da piruvato plasmático. Na comparação intergrupos e subgrupos, o piruvato plasmático reduziu significativamente ($p < 0,05$) sua concentração no s60'CaCa. Houve variação significante ($p < 0,05$) entre os grupos s30' e s60'.

Tabela 24 - Concentração da piruvato plasmático ($\mu\text{mol/mL}$) das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.

	Sham 0	Sham 30'	Sham 60'
CaCa	0,223 \pm 0,013	0,251 \pm 0,015	0,128 \pm 0,014*
OKG	0,188 \pm 0,017	0,174 \pm 0,020	0,238 \pm 0,017
Prob > t	0,1239	0,013	0,0006

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM). * $p < 0,05$ (comparando s60' com o s0' e s30'CaCa. Analisados pela ANOVA e comparação de médias pelo teste t de Student.

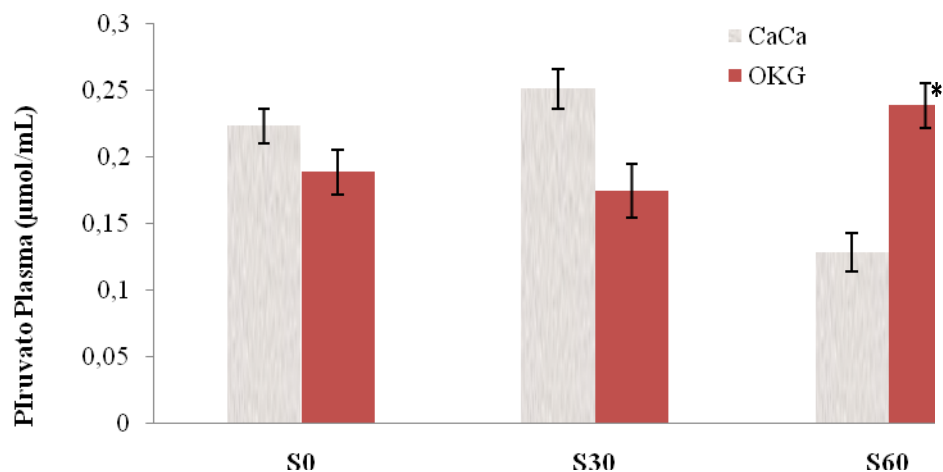


Gráfico 24 – Concentração da piruvato plasmático das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'

Na tabela 25 e gráfico 25 estão os valores médios da concentração do piruvato tecidual. Houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre s60'OKG e s60'CaCa. Analisados pela ANOVA e comparação de médias pelo teste t de Student.

Tabela 25 - Concentração do piruvato tecidual ($\mu\text{mol/g}$) das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.

	Sham 0	Sham 30'	Sham 60'
CaCa	0,107±0,03	0,184±0,02	0,109±0,014
OKG	0,073±0,02*	0,218±0,02	0,236±0,01
Prob > t	0,2922	0,2525	0,0001

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM). * $p < 0,05$ (comparando o s0'OKG com o s30' e s60'OKG. Analisados pela ANOVA e comparação de médias pelo teste t de Student.

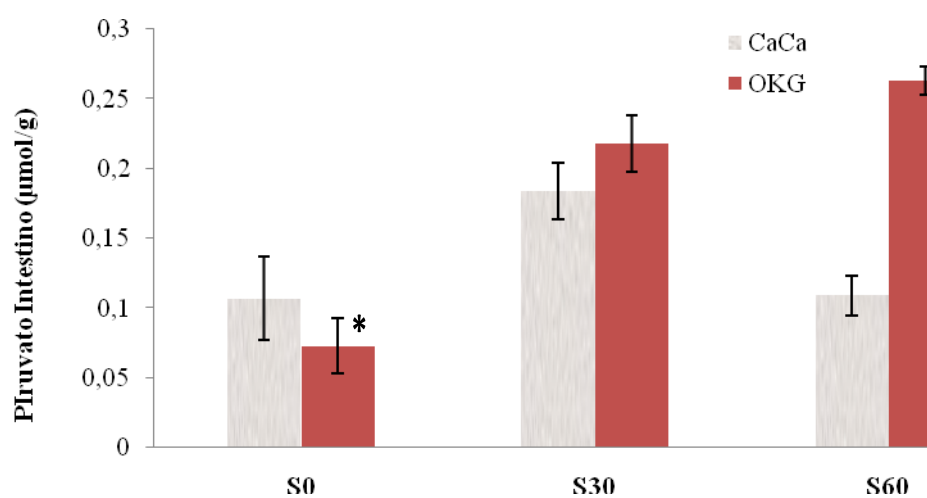


Gráfico 25 – Concentração da piruvato intestino do piruvato tecidual das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'

Na tabela 26 e gráfico 26 estão os valores médios do lactato plasma ($\mu\text{mol/ml}$). Na análise intergrupos, houve variação com diferença significativa ($p < 0,05$) na concentração do lactato no plasma dos animais dos subgrupos controle. Nos subgrupos okg a diferença foi significativa ($p < 0,05$) ocorreu no s0'. Os subgrupos OKG s30' e s60' não diferiram entre si.

Tabela 26 - Concentração do lactato plasma ($\mu\text{mol/ml}$) das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.

	Sham 0	Sham 30'	Sham 60'
CaCa	0,093 \pm 0,019*	0,344 \pm 0,03*	0,775 \pm 0,11*
OKG	0,116 \pm 0,007*	0,501 \pm 0,08	0,460 \pm 0,03
Prob > t	0,275	0,1007	0,0807

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM). * $P < 0,05$ comparando o s0', s30' e s60' CaCa. * $p < 0,05$ comparando o s0' OKG com s30' e 60' OKG pelo teste de Kruskal-Wallis.

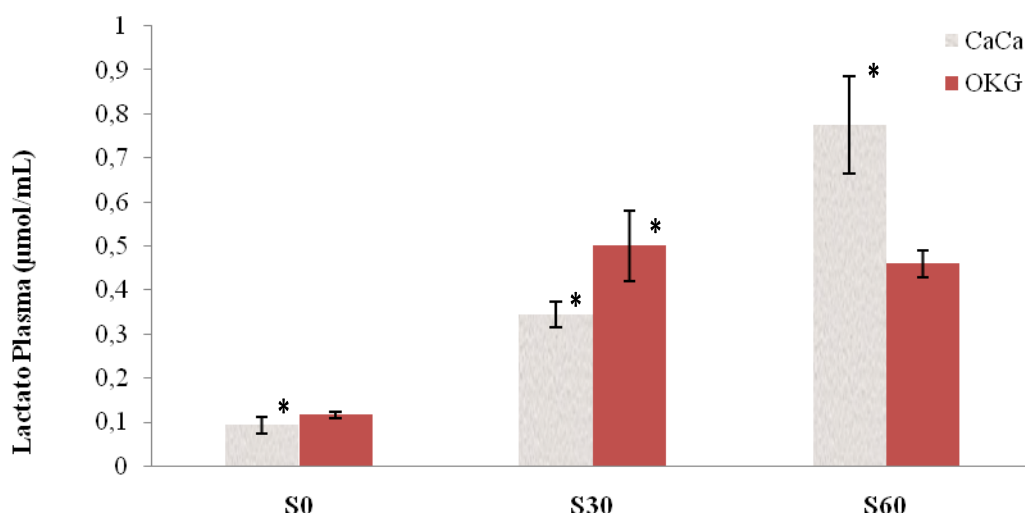


Gráfico 26 – Concentração do lactato plasma das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'

Na tabela 27 e gráfico 27 estão os valores médios da lactato tecidual ($\mu\text{mol/g}$). Na análise intergrupos, houve elevação estatisticamente significativa ($p < 0,05$) na concentração do lactato tecidual no s60' CaCa. Na análise intragrupos, houve redução com diferença significativa do lactato tecidual no subgrupo dos animais OKG ($p < 0,05$).

Tabela 27 - Concentração da lactato tecidual ($\mu\text{mol/g}$) das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.

	Sham 0	Sham 30'	Sham 60'
CaCa	0,436 \pm 0,06	0,297 \pm 0,03	1,138 \pm 0,13*
OKG	1,383 \pm 0,02	0,609 \pm 0,05	0,438 \pm 0,04
Prob > t	0,0001	0,0011	0,0018

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM). * $p < 0,05$ (comparando o Sham 60' CaCa com o Sham 0' e 30' CaCa. Analisados pela ANOVA e comparação de médias pelo teste t de Student.

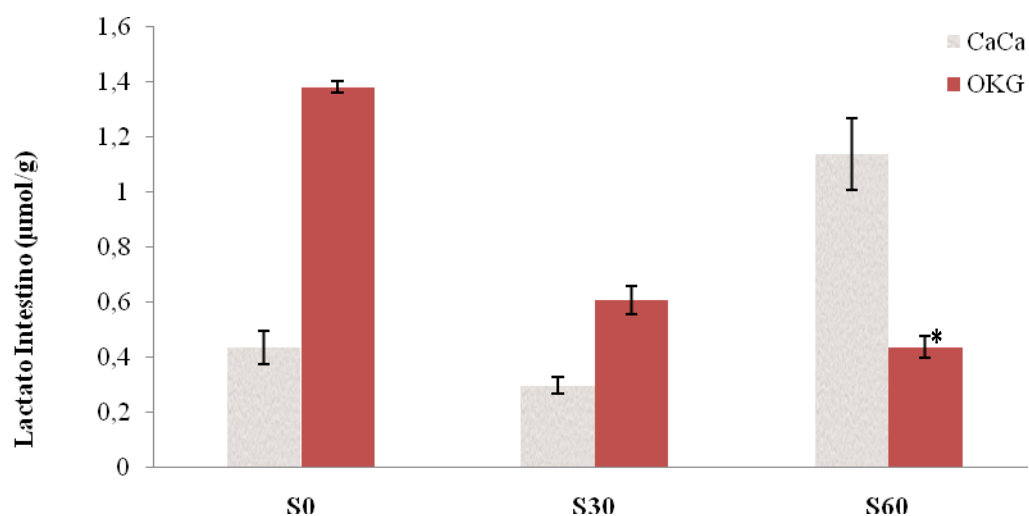


Gráfico 27 – Concentração da lactato tecidual das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'

Na tabela 28 e gráfico 28 estão os valores médios da T-Bars plasmático (μmol/mL) nos grupos, s0', s30', s60' OKG e CaCa. Na análise intragrupos não houve significância. Analisados pela ANOVA e comparação de médias pelo teste t de Student. Analisados pela ANOVA e comparação de médias pelo teste t de Student.

Tabela 28 - Concentração da T-Bars plasmático (μmol/mL) das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.

	Sham 0	Sham 30'	Sham 60'
n = 06	m (dp)	m (dp)	m (dp)
CaCa	0,011±0,005	0,017±0,004	0,018±0,005
OKG	0,003±0,001	0,011±0,004	0,036±0,011
Prob > t	0,1940	0,3140	0,1789

Resultados expressos em Média ± Erro Padrão da Média (EPM). Analisados pela ANOVA e comparação de médias pelo teste t de Student. (p>0,05).

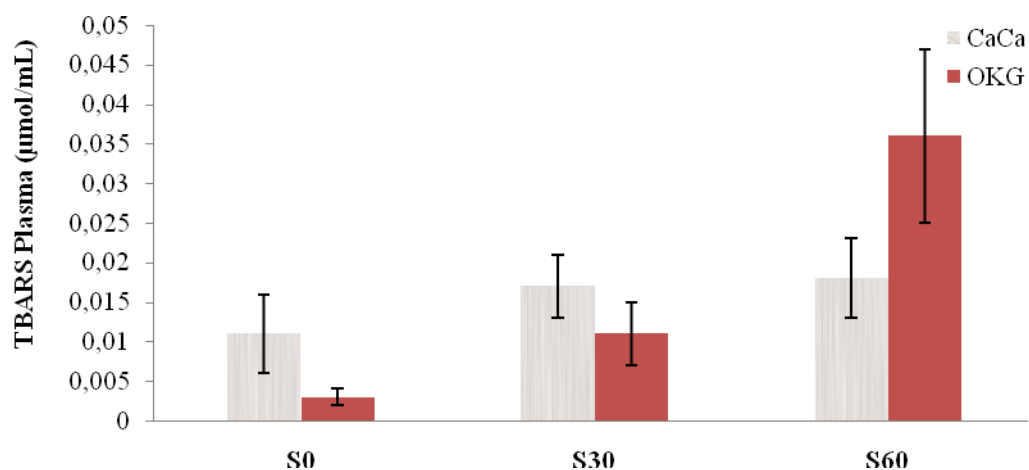


Gráfico 28 – Concentração da T-Bars plasmático das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'

Na tabela 29 e gráfico 29 estão os valores médios da T-Bars tecidual ($\mu\text{mol/g}$) nos grupos, Sham 0, Sham 30', Sham 60', Isquemia 30' e reperfusão 30' OKG e CaCa. Analisados pelo teste de Kruskal-Wallis. * $p < 0,05$.

Tabela 29 - Concentração da T-Bars tecidual ($\mu\text{mol/g}$) das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.

	Sham 0	Sham 30'	Sham 60'
n = 06	m (dp)	m (dp)	m (dp)
CaCa	0,0106 \pm 0,002	0,0064 \pm 0,002	0,006 \pm 0,0014
OKG	0,0031 \pm 0,001	0,0014 \pm 0,0003	0,0036 \pm 0,0014
Prob > t	0,0037	0,033	0,0326

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM). Analisados pelo teste Kruskal-Wallis* $p < 0,05$

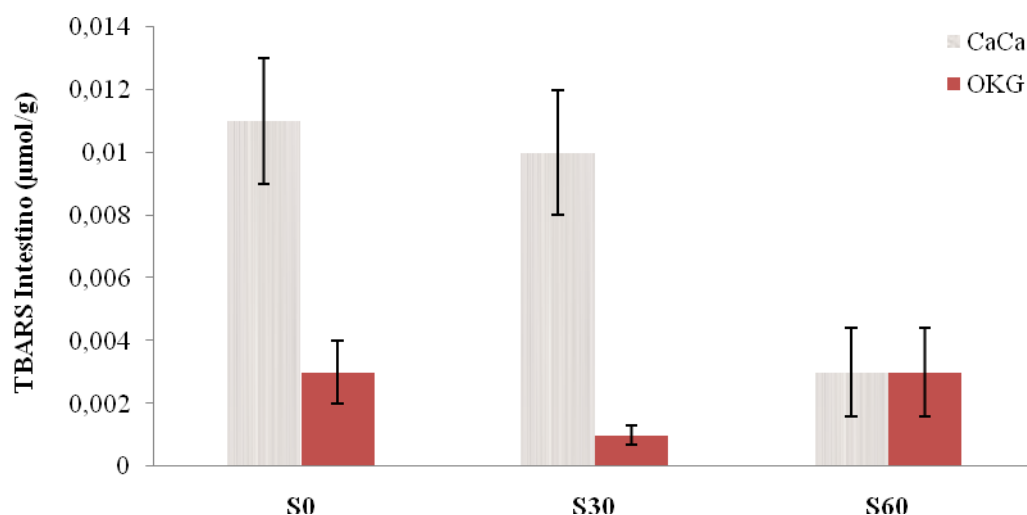


Gráfico 29 – Concentração da T-Bars tecidual das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'

Na tabela 30 e gráfico 30 estão os valores médios da glutatona plasma ($\mu\text{mol/mL}$) nos grupos, Sham 0', Sham 30', Sham 60'okg e CaCa. Analisados pela ANOVA e comparação de médias pelo teste t de Student.

Tabela 30 - Concentração da glutatona plasma ($\mu\text{mol/mL}$) das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.

	Sham 0	Sham 30'	Sham 60'
CaCa	24,38 \pm 3,05	17,86 \pm 0,77	15,89 \pm 0,87
OKG	21,29 \pm 1,54	22,26 \pm 1,82	15,95 \pm 0,81
Prob > t	0,39	0,06	0,087

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM). Analisados pela ANOVA e comparação de médias pelo teste t de Student

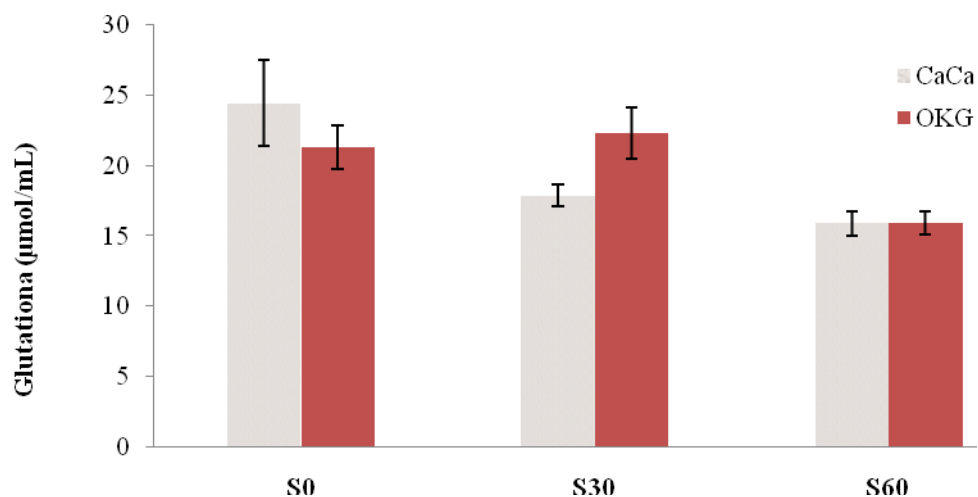


Gráfico 30 - Valores médios da glutatona plasma das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'

Na tabela 31 e gráfico 31 estão os valores médios a glutatona tecidual (µmol/mL). Na Análise inter grupos a concentração de glutatona tecidual apresentou variação estatisticamente significativa ($p < 0,05$) no s30'OKG e CaCa quando comparados aos demais subgrupos, que não diferiram entre si. Na análise inter grupos a diferença foi significativa no s0' e s30' ($p < 0,05$).

Tabela 31 – Concentração da glutatona tecidual (µmol/mL) das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.

	Sham 0	Sham 30'	Sham 60'
CaCa	51,99±2,20	25,09±1,53 *	47,97±4,91
OKG	32,89±6,98	59,17±2,39 *	39,97±5,05
Prob > t	0,0403	0,0001	0,2826

Resultados expressos em Média ± Erro Padrão da Média (EPM). * $p < 0,05$ comparando Sham 30'CaCa com Sham 0' e 60'. * $p < 0,05$ comparando o Sham 30'OKG com Sham 0' e 60' pelo teste de Kruskal-Wallis.

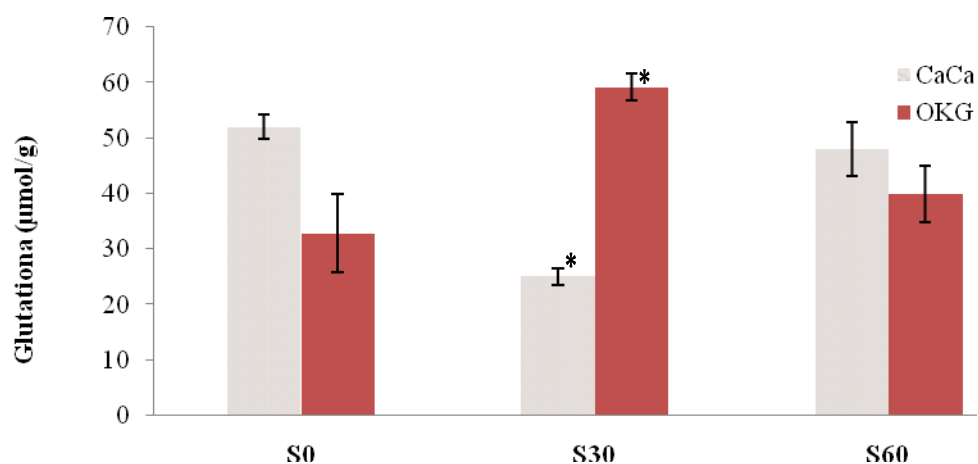


Gráfico 31 - Concentração da glutatona tecidual das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'

Na tabela 32 e gráfico 32 estão os valores médios do acetoacetato plasma ($\mu\text{mol/ml}$). Na análise intergrupos houve variação significativa ($p < 0,05$) entre os animais tratados com maior elevação no s30'OKG. Na análise intragrupos a diferença significativa ($p < 0,05$) nos grupos s0' e s30'.

Tabela 32 - Concentração do acetoacetato plasma ($\mu\text{mol/ml}$) das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.

	Sham 0	Sham 30'	Sham 60'
CaCa	0,196 \pm 0,04	0,066 \pm 0,01	0,059 \pm 0,01
OKG	0,087 \pm 0,01**	0,203 \pm 0,01**	0,055 \pm 0,01**
Prob > t	0,046	0,0001	0,8258

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM). ** $p < 0,01$ comparando o s30'okg com s0' e s60'OKG pelo teste de Kruskal-Wallis.

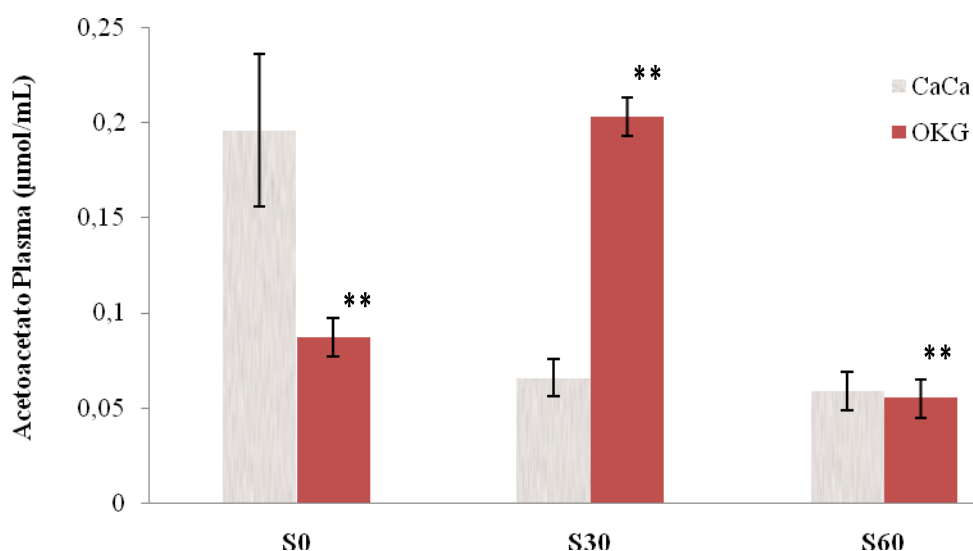


Gráfico 32 – Concentração do acetoacetato plasma das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'

Na tabela 33 e gráfico 33 estão os valores médios da acetoacetato tecidual ($\mu\text{mol/g}$). Na análise intergrupos, houve significância ($p < 0,05$) entre os animais tratados. Na análise intragrupos, houve significância ($p < 0,05$) entre os subgrupos do s0' e s30'.

Tabela 33 - Concentração da acetoacetato tecidual ($\mu\text{mol/g}$) das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.

	Sham 0	Sham 30'	Sham 60'
CaCa	0,079 \pm 0,014	0,051 \pm 0,01	0,048 \pm 0,013
OKG	0,033 \pm 0,01*	0,157 \pm 0,03*	0,063 \pm 0,01*
Prob > t	0,0220	0,0001	0,4277

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM). Elevação significativa * $p < 0,05$ comparando o s30'okg com s60' e s0'OKG pelo teste de Kruskal-Wallis.

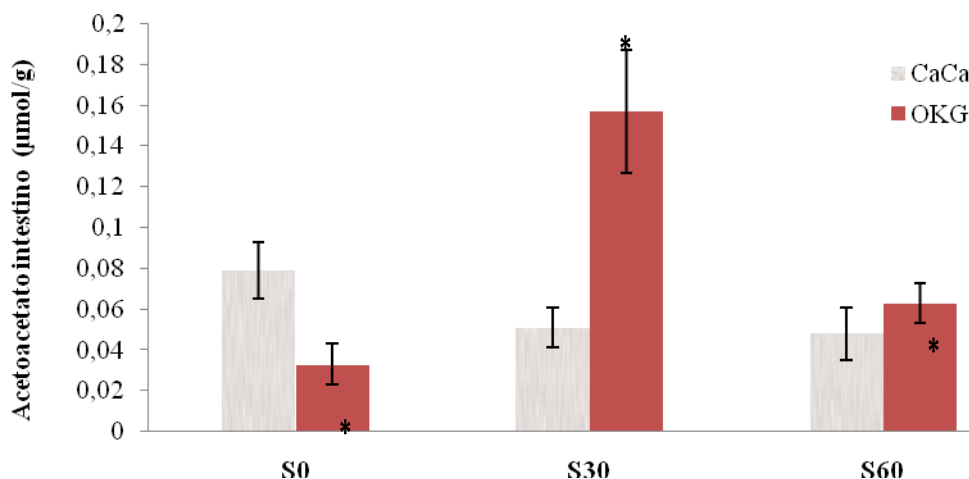


Gráfico 33 – Concentração da acetoacetato tecidual das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'

Na tabela 34 e gráfico 34 estão os valores médios da 3HBDH plasma ($\mu\text{mol}/\text{m}$). Na análise inter grupos, houve redução significativa ($p < 0,05$) no s60'OKG quando comparado os demais grupos dos animais tratados e controle. Na análise intragrupos, houve diferença significativa ($p < 0,05$) no s60'. Analisados pela ANOVA e comparação de médias pelo teste t de Student.

Tabela 34 – Concentração da 3HBDH plasma ($\mu\text{mol}/\text{m}$) das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.

	Sham 0	Sham 30'	Sham 60'
CaCa	0,059±0,014	0,083±0,01	0,094±0,02
OKG	0,075±0,01	0,060±0,01	0,020±0,01*
Prob > t	0,4391	0,2160	0,0302

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM). * $P < 0,05$ (comparação entre o s60'okg com o s0'e s30'okg).

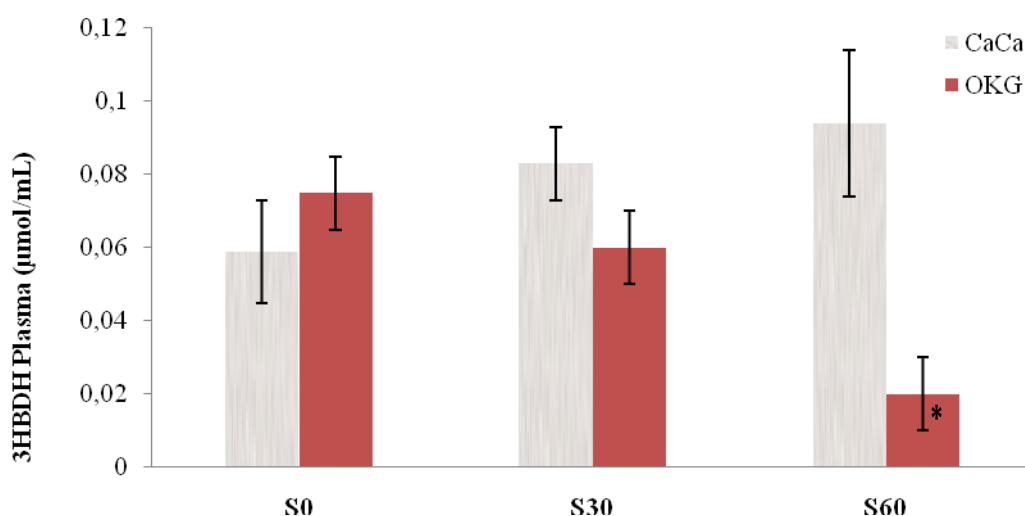


Gráfico 34 – Concentração da 3HBDH plasma das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'

Na tabela 35 e gráfico 35 estão os valores médios médios da 3HBDH tecidual ($\mu\text{mol/g}$). Na análise intergrupos houve diferença significativa ($p<0,05$) no s30'CaCa e no s30'OKG quando comparados ao s0' e s60'. Na análise intragrupos a diferença foi estatisticamente significativa ($p<0,05$) no s30'. Analisadas pela ANOVA e comparação de médias pelo teste t de Student.

Tabela 35 - Concentração da 3HBDH tecidual ($\mu\text{mol/g}$) das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.

	Sham 0	Sham 30'	Sham 60'
CaCa	0,075 \pm 0,011	0,043 \pm 0,01 *	0,095 \pm 0,02
OKG	0,062 \pm 0,011	0,103 \pm 0,01 *	0,064 \pm 0,01
Prob > t	0,4544	0,0008	0,2085

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM). * $p<0,05$ (comparando o s30'CaCa com o s0's60 CaCa'. * $p<0,05$ (comparando o s30'okg com o s0' e s60'OKG.

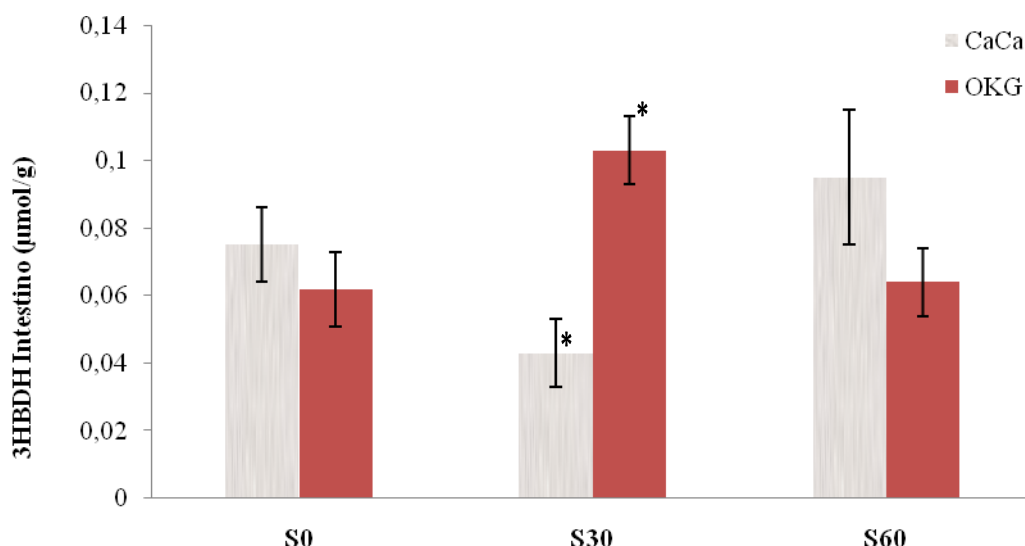


Gráfico 35 – Concentração da 3HBDH tecidual das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.

Na tabela 36 e gráfico 36 estão os valores médios da mieliperoxidase plasma ($\mu\text{mol/ml}$). Na análise intergrupos, houve diferença significativa ($p<0,05$) entre os subgrupos dos animais tratados e não tratados. Na análise intragrupos, não houve significância ($p>0,05$).

Tabela 36 - Concentração da mieliperoxidase plasma ($\mu\text{mol/ml}$) das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'.

	Sham 0	Sham 30'	Sham 60'
CaCa	0,756 \pm 0,095**	3,561 \pm 0,456**	1,982 \pm 0,271**
OKG	0,77 \pm 0,041**	3,859 \pm 0,104**	1,782 \pm 0,261**
Prob > t	0,9071	0,5489	0,6073

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM). ** $p<0,01$ comparando o s30'CaCa com s60' e s0' CaCa. ** $p<0,01$ comparando o s30'OKG com o s60' s0'OKG, pelo teste de Kruskal-Wallis.

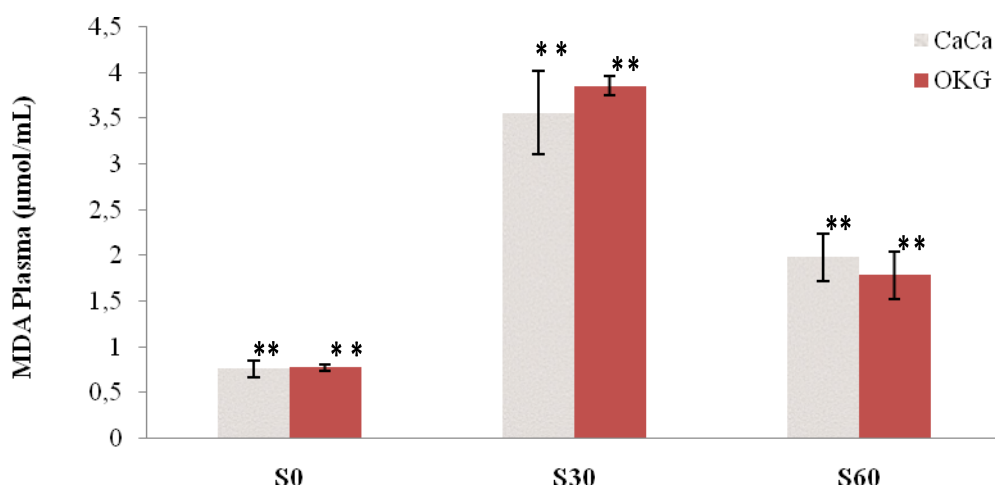


Gráfico 36 – Concentração da mieliperoxidase plasma das análises intergrupos dos grupos Sham 0', 30', 60'

4.3 Efeitos do procedimento cirúrgico sobre os parâmetros do grupo Sham 30' isquemia trinta minutos OKG e CaCa das análises intersubgrupos

Na tabela 37 e gráfico 37 estão os valores médios da glutatona plasma ($\mu\text{mol/ml}$), nos grupos, Sham 30', Isquemia e Isquemia mais reperusão nos subgrupos, CaCa e OKG. Médias equivalentes ($p > 0,05$ pelo teste t de Student. Na análise intersubgrupos não ocorreu diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$).

Tabela 37 - Concentração da glutatona plasma ($\mu\text{mol/ml}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30' OKG e CaCa.

Sham 30' (CaCa)	Sham 30' (OKG)	Isquemia (CaCa)	Isquemia (OKG)
17,86 \pm 0,77 ^{ns}	22,26 \pm 1,82	17,86 \pm 1,29	19,95 \pm 1,27

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM). ^{ns}Médias equivalentes ($p > 0,05$) pelo teste t de Student

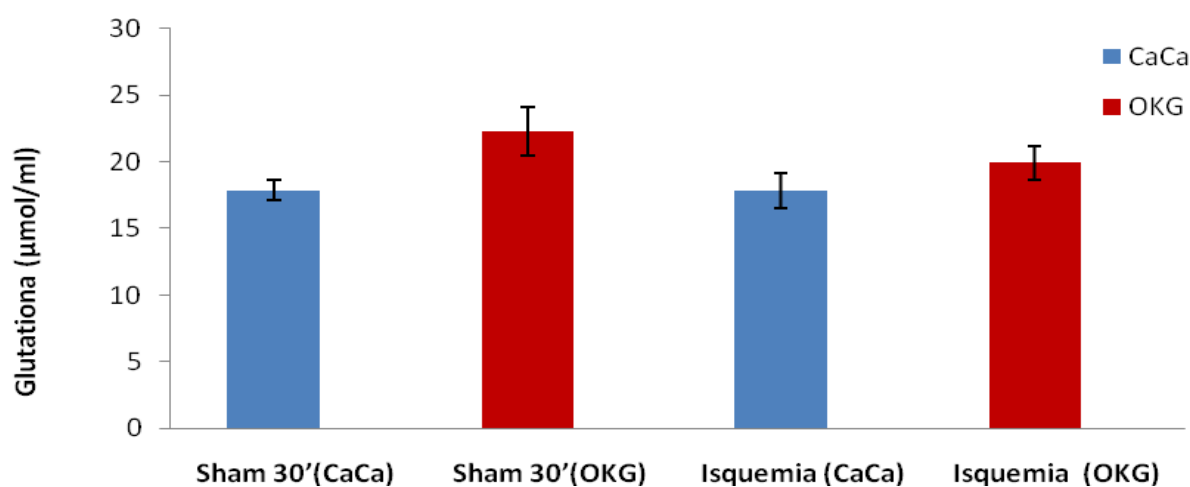


Gráfico 37 – Concentração da glutatona plasma das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30' OKG e CaCa.

Na tabela 38 e gráfico 38 estão os valores médios da glutatona intestino ($\mu\text{mol/g}$). Houve elevação com diferença significativa ($p < 0,05$) no s30'okg em relação ao s30'CaCa. Houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre o s30'okg e i30'OKG. $p > 0,05$ entre i30'CaCa e i30'OKG.

Tabela 38- Concentração da glutatona intestino ($\mu\text{mol/g}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30' OKG e CaCa.

Sham 30' (CaCa)	Sham 30' (OKG)	Isquemia (CaCa)	Isquemia (OKG)
25,09 \pm 1,53 c	59,17 \pm 2,39 a	33,04 \pm 3,80 b	29,67 \pm 4,49 b

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM). ** $P < 0,01$ comparando o s30'CaCa s30' OKG e diferenças significativas desses com Isquemia CaCa e OKG, porém $p > 0,05$ comparando Isquemia CaCa com Isquemia OKG, pelo teste de Kruskal-Wallis.

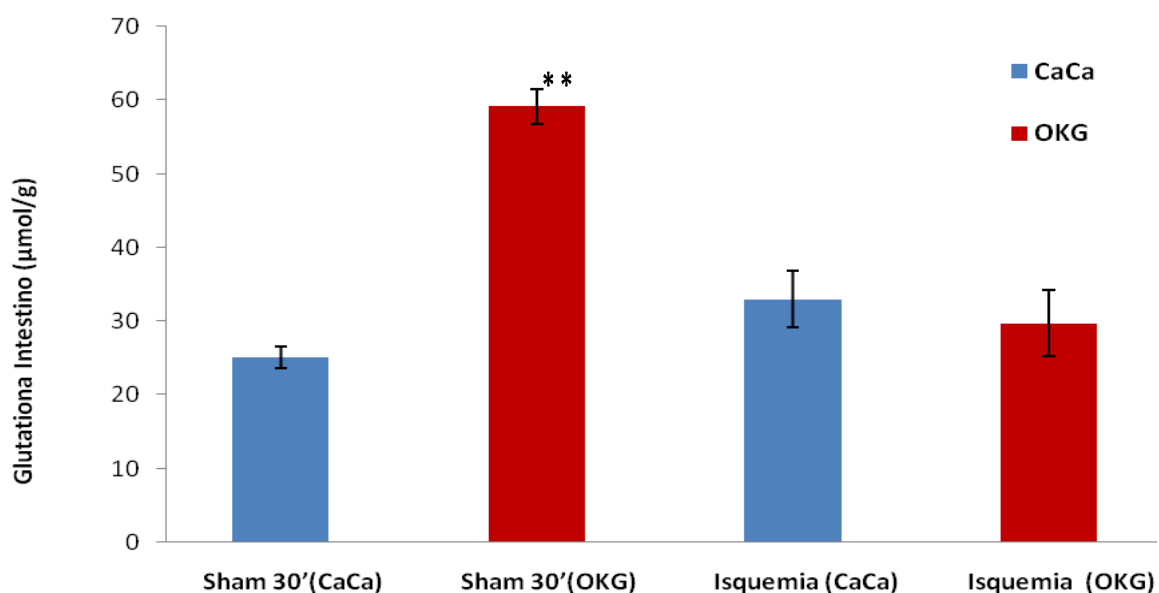


Gráfico 38 – Concentração da glutatona intestino das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30' OKG e CaCa

Na tabela 39 e gráfico 39 estão os valores médios da acetoacetato plasma ($\mu\text{mol/ml}$). Na análise intersubgrupos houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre s30'OKG e i30'OKG. $p < 0,05$ entre i30'CaCa e i30'OKG. $p > 0,05$ entre s30'CaCa e i30'CaCa.

Tabela 39 - Valores médios da concentração da acetoacetato plasma ($\mu\text{mol/ml}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30' OKG e CaCa.

Sham 30' (CaCa)	Sham 30' (OKG)	Isquemia (CaCa)	Isquemia (OKG)
0,066 \pm 0,01 c	0,203 \pm 0,01 a	0,0709 \pm 0,01 c	0,079 \pm 0,01 b

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM). ^c Médias com pelo menos uma letra comum são equivalentes pelo teste pelo teste de Kruskal-Wallis

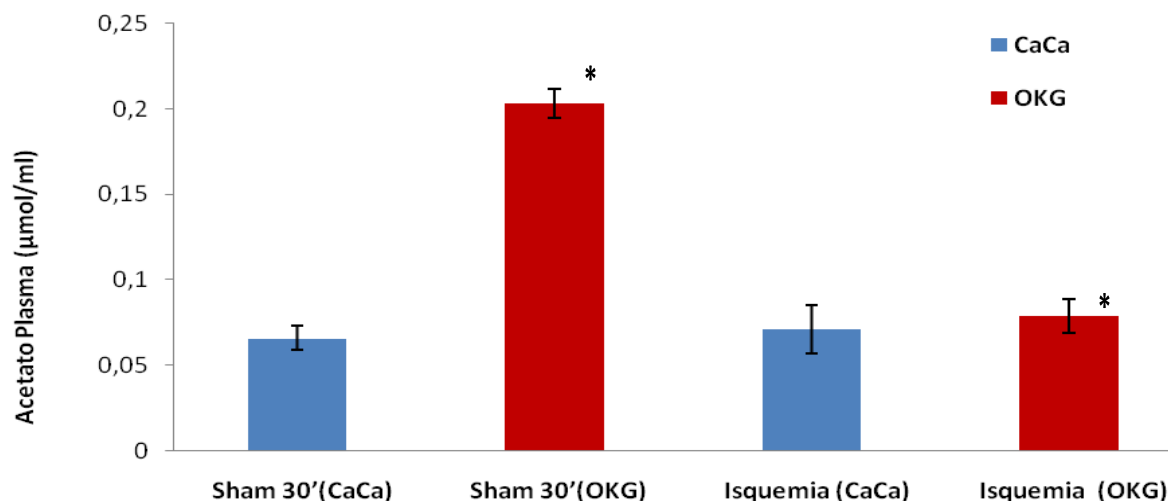


Gráfico 39 – Concentração da acetoacetato plasma das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30' OKG e CaCa

De acordo com o mostrado no gráfico 39, verifica-se que houve elevação significativa ($p < 0,05$) no s30'OKG comparado ao i30'OKG. Ainda verifica-se a elevação significativa ($p < 0,05$) no i30'OKG quando comparado ao s30'CaCa e i30'CaCa.

Na tabela 40 e gráfico 40 estão os valores médios do acetoacetato intestino ($\mu\text{mol/g}$). Houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) semelhante aos da concentração do acetoacetato plasmático. $p < 0,05$ entre i30'CaCa e i30'OKG. Pela análise do gráfico, verificou-se $p < 0,05$ entre s30'CaCa e s30'OKG e $p > 0,05$ entre s30'CaCa e i30'OKG.

Tabela 40 - Concentração do acetoacetato intestino ($\mu\text{mol/g}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30' OKG e CaCa.

Sham 30' (CaCa)	Sham 30' (OKG)	Isquemia (CaCa)	Isquemia (OKG)
0,0518±0,01 c	0,157±0,03 a	0,0685±0,01 b	0,057±0,01 c

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM). ^c Médias com pelo menos uma letra comum são equivalentes pelo teste de Kruskal-Wallis

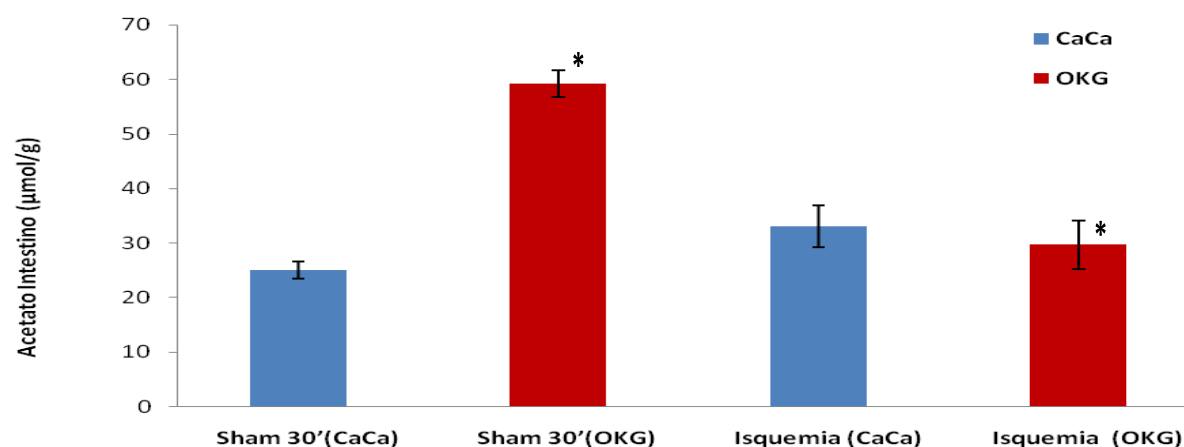


Gráfico 40 – Concentração do acetoacetato intestino das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30' OKG e CaCa

Na tabela 41 e gráfico 41 estão os valores médios da piruvato plasmático ($\mu\text{mol/ml}$). Verificou-se que não houve diferença significativa ($p>0,05$) nos subgrupos i30' dos animais tratados e controle.

Tabela 41 - Concentração da piruvato plasmático ($\mu\text{mol/ml}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30' OKG e CaCa.

Sham 30' (CaCa)	Sham 30' (OKG)	Isquemia (CaCa)	Isquemia (OKG)
0,251 \pm 0,015 a	0,174 \pm 0,020 b	0,122 \pm 0,025 c	0,099 \pm 0,049 c

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM). ^a Médias com pelo menos uma letra comum são equivalentes pelo teste pelo teste de t de Student. $p<0,05$ entre s30'CaCa e $p>0,05$ entre i30CaCa e i30'OKG.

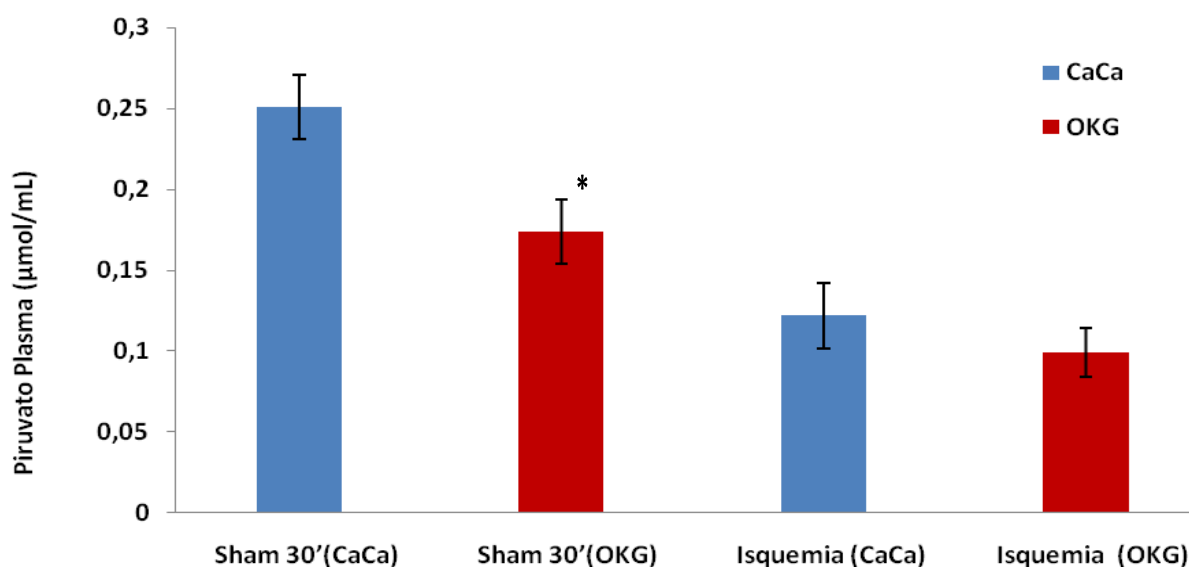


Gráfico 41 – Concentração da piruvato plasmático das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30' OKG e CaCa

Na tabela 42 e gráfico 42 estão os valores médios da piruvato tecidual. Não houve diferença significativa ($p>0,05$) na análise de concentração entre os subgrupos Sham e isquemia.

Tabela 42 - Concentração da piruvato tecidual ($\mu\text{mol/g}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30' OKG e CaCa.

Sham 30' (CaCa)	Sham 30' (OKG)	Isquemia (CaCa)	Isquemia (OKG)
0,184 \pm 0,02 ^{ns}	0,218 \pm 0,02	0,163 \pm 0,02	0,222 \pm 0,015

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM). ^{ns}Médias equivalentes ($P>0,05$) pelo teste t de Student.

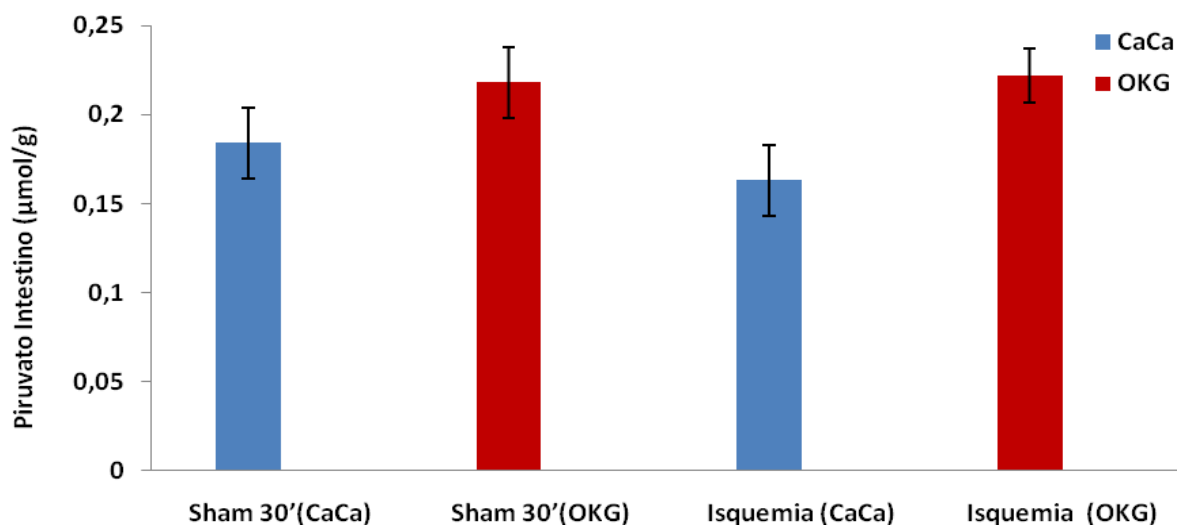


Gráfico 42 – Concentração da piruvato tecidual das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30' OKG e CaCa

Na tabela 43 e gráfico 43 estão os valores médios da CPK plasma (ui/l). Houve elevação com diferença significativa ($p < 0,05$) entre os animais do s30'CaCa e s30'OKG. A concentração da CPK no i30'OKG e CaCa foi equivalente ($p > 0,05$).

Tabela 43 - Concentração da CPK plasma (ui/l) das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30' OKG e CaCa.

Sham 30' (CaCa)	Sham 30' (OKG)	Isquemia (CaCa)	Isquemia (OKG)
178,82±5,06 a	99,03±5,74 c	128,84±13,23 b	122,03±14,49 b

Resultados expressos em Média ± Erro Padrão da Média (EPM). ^a Médias com pelo menos uma letra comum são equivalentes pelo teste de t de Student

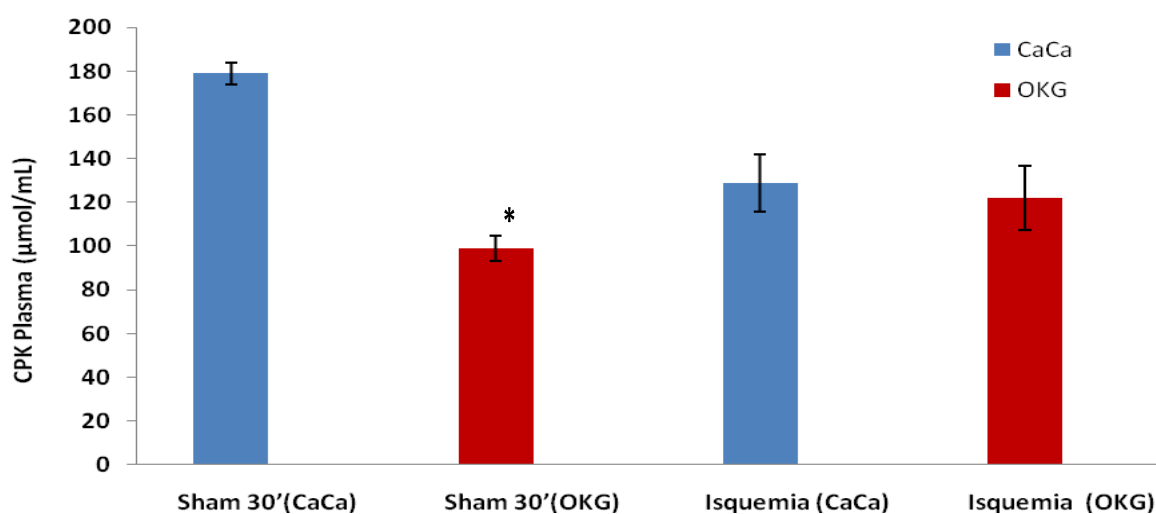


Gráfico 43 – Concentração da CPK plasma das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30' OKG e CaCa

Na tabela 44 e gráfico 44 estão os valores médios da LDH (ui/l). Houve variação com diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre os subgrupos tratados e não tratados. As maiores elevações foram observadas no s30'CaCa e i30'OKG, e quando comparados entre si, apresentaram significância ($p < 0,05$).

Tabela 44 - Concentração da LDH (ui/l) das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30' OKG e CaCa.

Sham 30' (CaCa)	Sham 30' (OKG)	Isquemia (CaCa)	Isquemia (OKG)
423,11±63,10**	137,412±10,35**	132,93±12,54**	278,01±51,52**

Resultados expressos em Média ± Erro Padrão da Média (EPM). $P < 0,01$ pelo teste de Kruskal-Wallis.

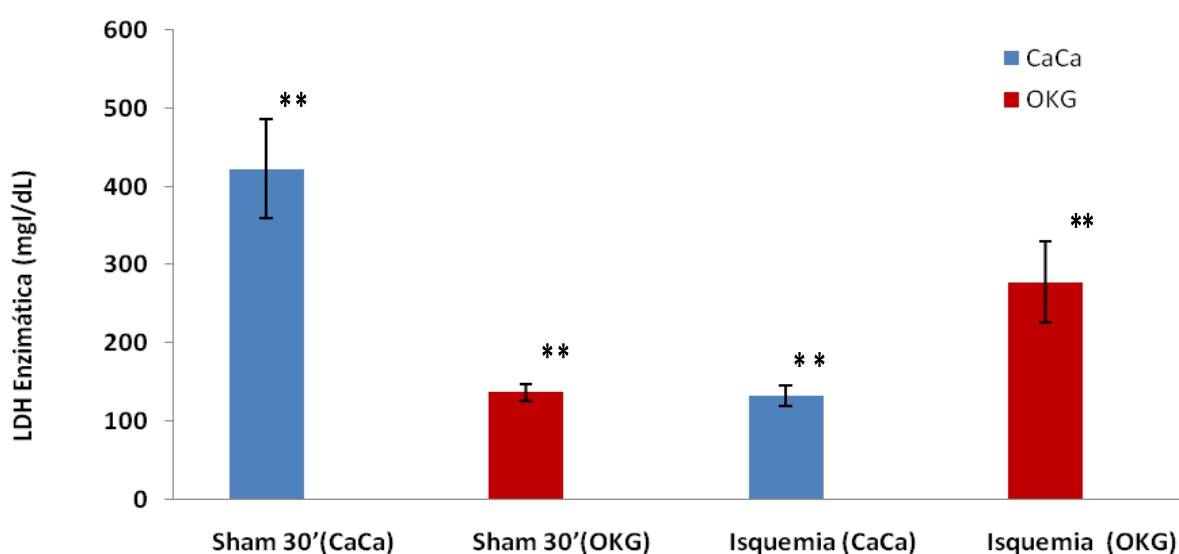


Gráfico 44 – Concentração da LDH das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30' OKG e CaCa

Na tabela 45 e gráfico 45 estão os valores médios do lactato plasma ($\mu\text{mol/ml}$). Houve variação significativa ($p < 0,05$) entre todos os subgrupos. A maior elevação foi observada no i30'OKG; $p < 0,05$ entre o i30'CaCa e i30'OKG; $p < 0,05$ entre s30'CaCa e s30'OKG.

Tabela 45 - Concentração do lactato plasma ($\mu\text{mol/ml}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30' OKG e CaCa.

Sham 30' (CaCa)	Sham 30' (OKG)	Isquemia (CaCa)	Isquemia (OKG)
0,344 \pm 0,03 **	0,501 \pm 0,08 **	0,794 \pm 0,06 **	1,186 \pm 0,18 **

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM). $P < 0,01$ pelo teste de Kruskal-Wallis

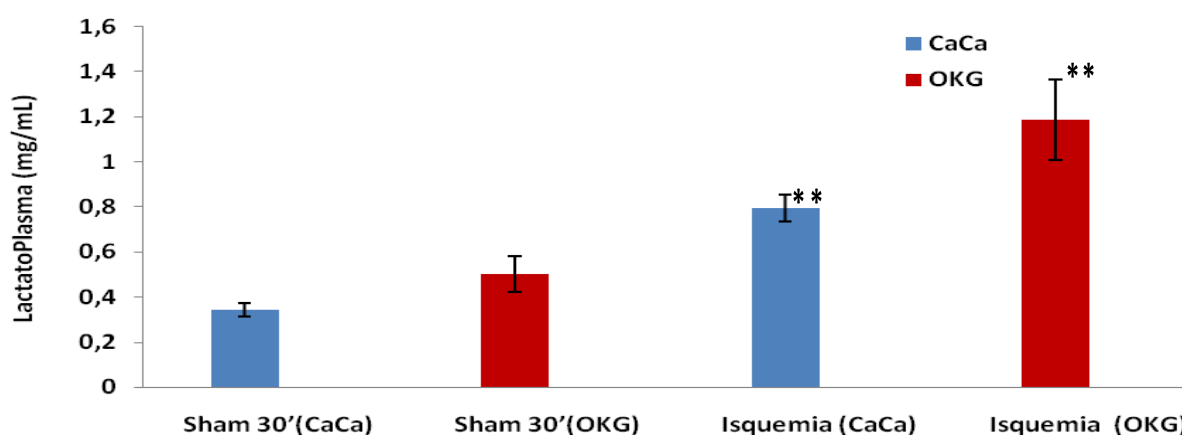


Gráfico 45 – Concentração do lactato plasma das análises intersubgrupos do grupo Sham 30', I 30' OKG e CaCa

Na tabela 46 e gráfico 46 estão os valores médios da lactato intestino ($\mu\text{mol/g}$). Houve variação significativa ($p < 0,05$) entre os subgrupos analisados. A maior elevação foi observada no s30'OKG, com redução no i30'OKG. $p < 0,05$ entre s30'OKG e CaCa. $p < 0,05$ entre i30'OKG e CaCa.

Tabela 46 - Concentração da lactato intestino ($\mu\text{mol/g}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30' OKG e CaCa.

Sham 30' (CaCa)	Sham 30' (OKG)	Isquemia (CaCa)	Isquemia (OKG)
0,2967 \pm 0,03*	0,6092 \pm 0,05*	0,1715 \pm 0,04*	0,293 \pm 0,09*

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM). $P < 0,05$ pelo teste t de Student

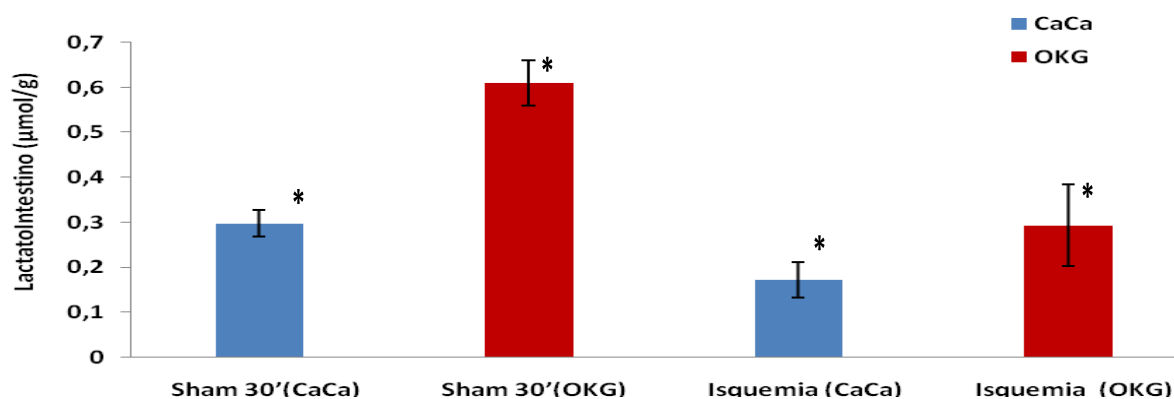


Gráfico 46 – Concentração da lactato intestino das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30' OKG e CaCa

Na tabela 47 e gráfico 47 estão os valores médios da 3HBDH plasma ($\mu\text{mol/m}$). Não houve diferença significativa na concentração da 3HBDH entre os subgrupos avaliados $p>0,05$.

Tabela 47 - Valores médios da concentração da 3HBDH plasma ($\mu\text{mol/m}$) das análises inter-subgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30' OKG e CaCa.

Sham 30' (CaCa)	Sham 30' (OKG)	Isquemia (CaCa)	Isquemia (OKG)
0,0827 \pm 0,01 ^{ns}	0,0602 \pm 0,01	0,0513 \pm 0,09	0,0427 \pm 0,06

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM). ^{ns}Médias equivalentes ($P>0,05$) pelo teste pelo teste t de Student.

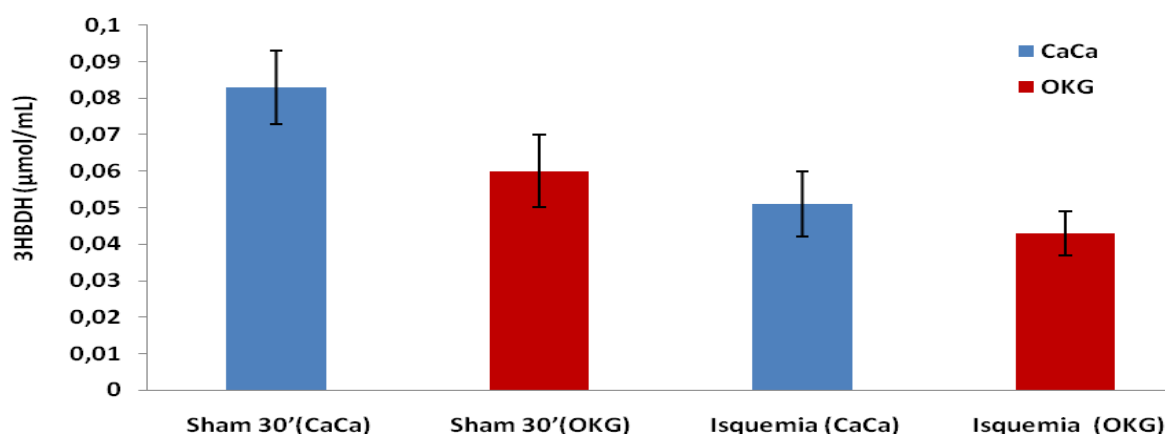


Gráfico 47- Concentração da 3HBDH plasma das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30' OKG e CaCa

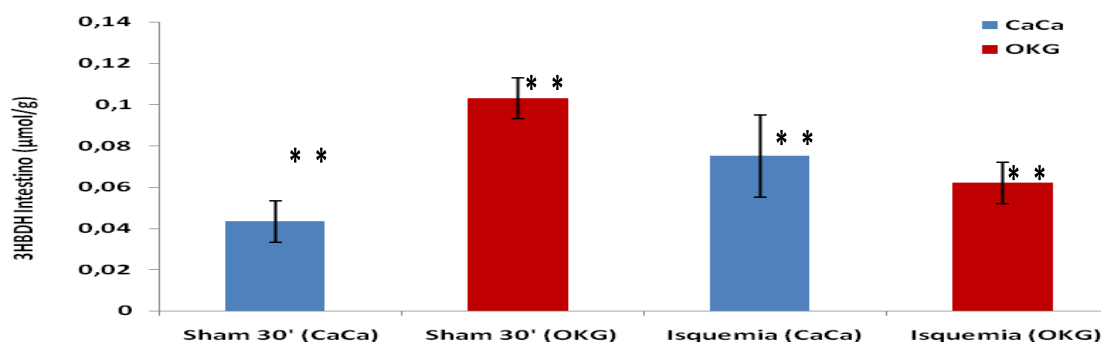
Na tabela 48 e gráfico 48 estão os valores médios da 3HBDH intestino ($\mu\text{mol/g}$). Houve variação significativa ($p<0,05$) entre os subgrupos avaliados. $p<0,05$ entre i30'CaCa e OKG. $p<0,05$ entre s30'CaCa e OKG. Maior elevação no s30'OKG.

Tabela 48 - Concentração da 3HBDH intestino ($\mu\text{mol/g}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30' OKG e CaCa.

Sham 30' (CaCa)	Sham 30' (OKG)	Isquemia (CaCa)	Isquemia (OKG)
0,0432 \pm 0,01 ^{**}	0,103 \pm 0,01 ^{**}	0,075 \pm 0,02 ^{**}	0,062 \pm 0,01 ^{**}

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM). $p<0,01$ pelo teste t de Student.

Gráfico 48-Concentração da 3HBDH intestino das análises intersubgrupos do grupo Sham 30'



e Isq 30' OKG e CaCa

Na tabela 49 e gráfico 49 estão os valores médios da mieliperoxidase plasma ($\mu\text{mol/ml}$). Houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos sham e isquemia tanto em relação aos animais tratados como não tratados, porém os subgrupos sham e isquemia não foram diferentes na comparação intragrupos ($p > 0,05$).

Tabela 49 - Concentração da mieliperoxidase plasma ($\mu\text{mol/ml}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30' OKG e CaCa.

Sham 30' (CaCa)	Sham 30' (OKG)	Isquemia (CaCa)	Isquemia (OKG)
3,561 \pm 0,456 a	3,859 \pm 0,104 a	0,191 \pm 0,02 b	0,395 \pm 0,14 b

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM). ^a Médias com pelo menos uma letra comum são equivalentes pelo teste pelo teste de Kruskal-Wallis.

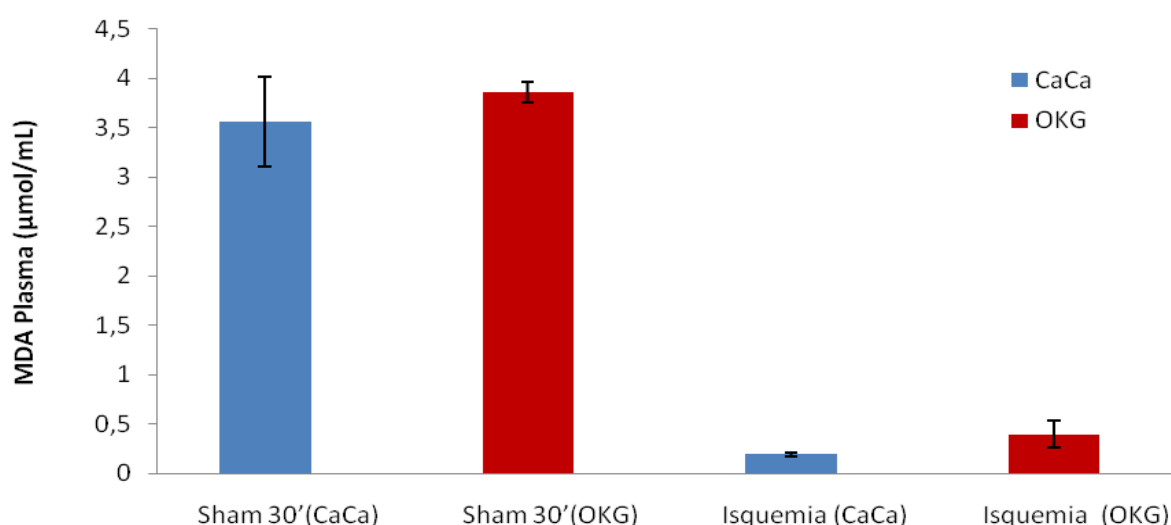


Gráfico 49 - Concentração da mieliperoxidase plasma das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30' OKG e CaCa

Na tabela 50 e gráfico 50 estão os valores médios da T-Bars plasmática ($\mu\text{mol/mL}$) nos grupos, s30' CaCa e okg e i30' CaCa e okg. Não houve diferença significativa nesta análise ($p > 0,05$).

Tabela 50 - Concentração da T-Bars plasmática ($\mu\text{mol/mL}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30' OKG e CaCa.

Sham 30' (CaCa)	Sham 30' (OKG)	Isquemia (CaCa)	Isquemia (OKG)
0,0173 \pm 0,004	0,0113 \pm 0,004	0,0267 \pm 0,004	0,03 \pm 0,011

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM). Médias equivalentes ($P > 0,05$) pelo teste pelo teste t de Student.

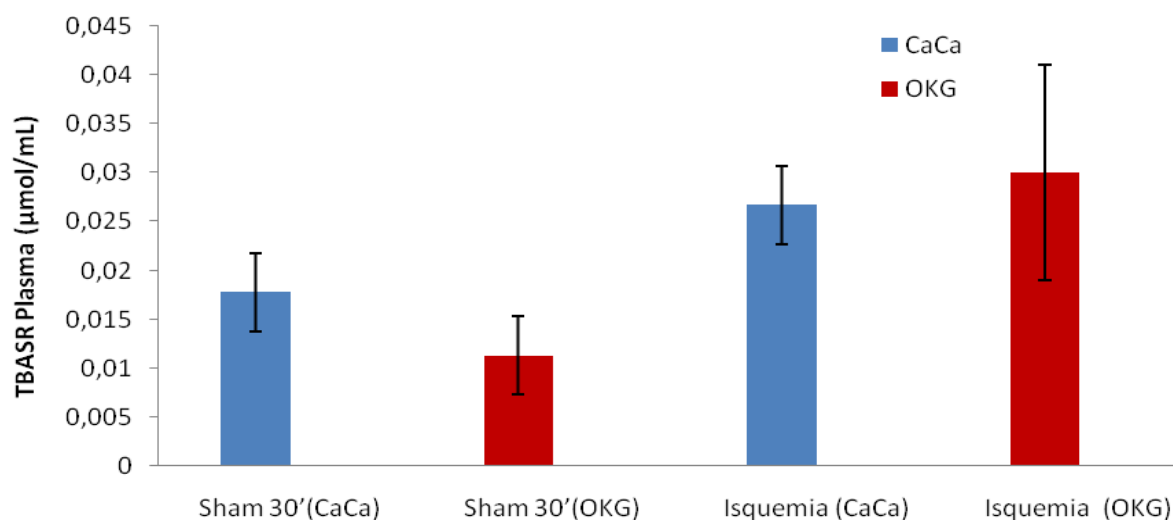


Gráfico 50 – Concentração da T-Bars plasmática das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30' OKG e CaCa

Na tabela 51 e gráfico 51 estão os valores médios da T-Bars tecidual (μmol/g). Houve variação significativa ($p < 0,05$) na análise inter grupos e intragrupos. A maior elevação ocorreu no subgrupo i30'OKG.

Tabela 51 - Concentração da T-Bars tecidual (μmol/g) das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30' OKG e CaCa.

Sham 30' (CaCa)	Sham 30' (OKG)	Isquemia (CaCa)	Isquemia (OKG)
0,0064±0,0018**	0,0012±0,0003**	0,022±0,0012**	0,0428±0,0079**

Resultados expressos em Média ± Erro Padrão da Média (EPM). ^c Médias com pelo menos uma letra comum são equivalentes pelo teste pelo teste de Kruskal-Wallis.

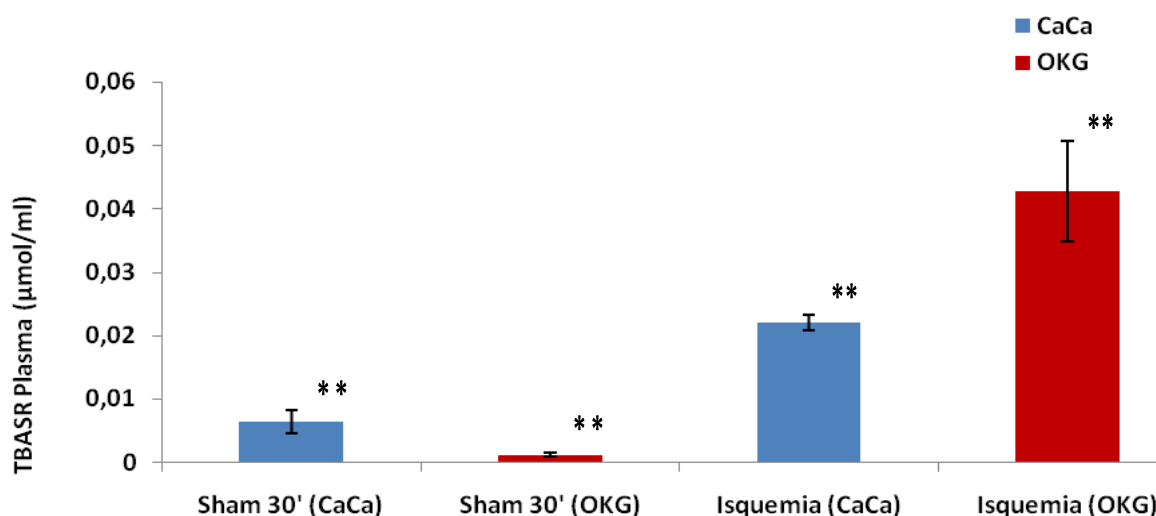


Gráfico 51 - Concentração da T-Bars tecidual das análises intersubgrupos do grupo Sham 30', e Isq 30' OKG e CaCa

Na tabela 52 e gráfico 52 estão os valores médios da glicose enzimática ($\mu\text{mol/mL}$) nos grupos, s30'CaCa, s30'OKG, i30'OKG e i30'CaCa. Houve diferença significativa ($p<0,05$) no grupo s30' entre os animais tratados e não tratados. O grupo isquemia não diferiu entre si ($p>0,05$).

Tabela 52 - Concentração de glicose enzimática ($\mu\text{mol/mL}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30' OKG e CaCa.

Sham 30' (CaCa)	Sham 30' (OKG)	Isquemia (CaCa)	Isquemia (OKG)
138,56 \pm 8,68 c	205,65 \pm 15,04 a	131,75 \pm 11,46 b	165,06 \pm 15,55 b

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM). ^c Médias com pelo menos uma letra comum são equivalentes pelo teste pelo teste de Kruskal-Wallis

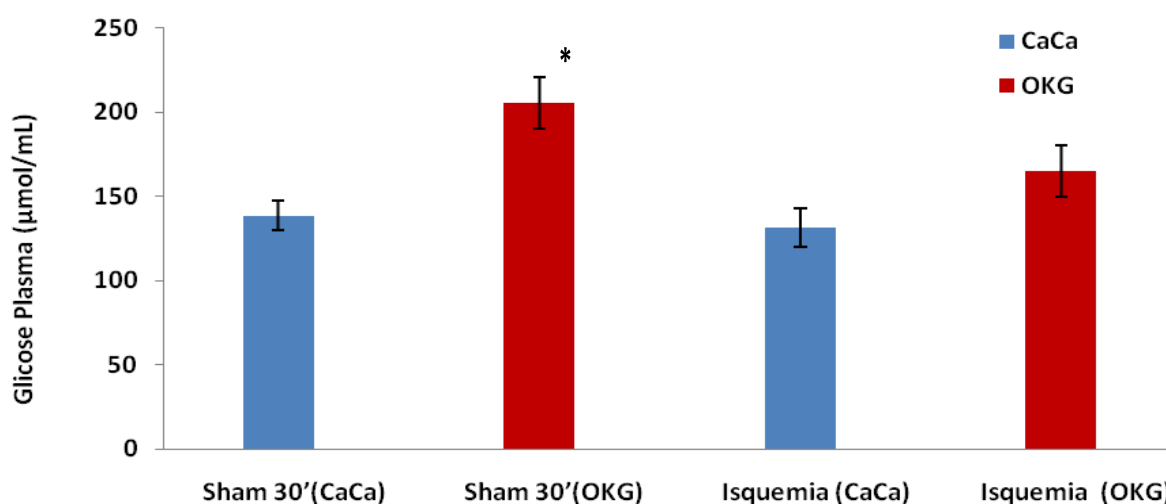


Gráfico 52 – Concentração de glicose enzimática ($\mu\text{mol/mL}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30' OKG e CaCa

Na tabela 53 e gráfico 53 estão os valores médios da glicose plasma 6HPDH ($\mu\text{mol/ml}$) nos grupos, Sham 30' Ca Ca e OKG e i30'CaCa e OKG, Houve variação com significância estatística ($p<0,05$) na análise inter subgrupos e intra grupos. A maior elevação foi observada no i30'CaCa, $p<0,05$ entre i30'OKG e i30'CaCa.

Tabela 53 - Concentração da glicose plasma 6HPDH ($\mu\text{mol/ml}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30' OKG e CaCa.

Sham 30' (CaCa)	Sham 30' (OKG)	Isquemia (CaCa)	Isquemia (OKG)
$0,4672 \pm 0,1229^*$	$0,582 \pm 0,102^*$	$1,1098 \pm 0,0796^*$	$0,1442 \pm 0,048^*$

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM). * $p < 0,05$ pelo teste t de Student.

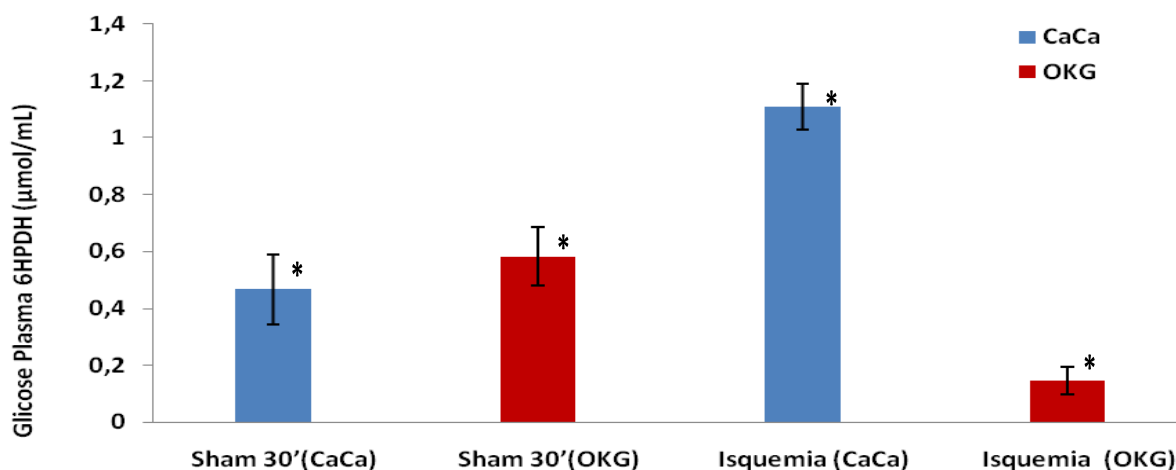


Gráfico 53 – Concentração da glicose plasma 6HPDH das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30' OKG e CaCa

Na tabela 54 e gráfico 54 estão os valores médios da glicose intestino 6HPDH ($\mu\text{mol/g}$) nos grupos s30'CaCa, s30'OKG, i30'CaCa e i30'OKG. Houve variação significativa ($p < 0,05$) na análise intersubgrupos e intragrupos. A maior elevação foi observada no s30'OKG, $p < 0,05$ entre i30'CaCa e i30'OKG e $p < 0,05$ entre s30'CaCa e s30'OKG

Tabela 54 - Concentração de glicose intestino 6HPDH ($\mu\text{mol/g}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 30', I 30' OKG e CaCa.

Sham 30' (CaCa)	Sham 30' (OKG)	Isquemia (CaCa)	Isquemia (OKG)
$0,2022 \pm 0,037^*$	$1,1897 \pm 0,071^*$	$0,147 \pm 0,0264^*$	$0,1002 \pm 0,02^*$

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM). * $p < 0,05$ pelo teste t de Student.

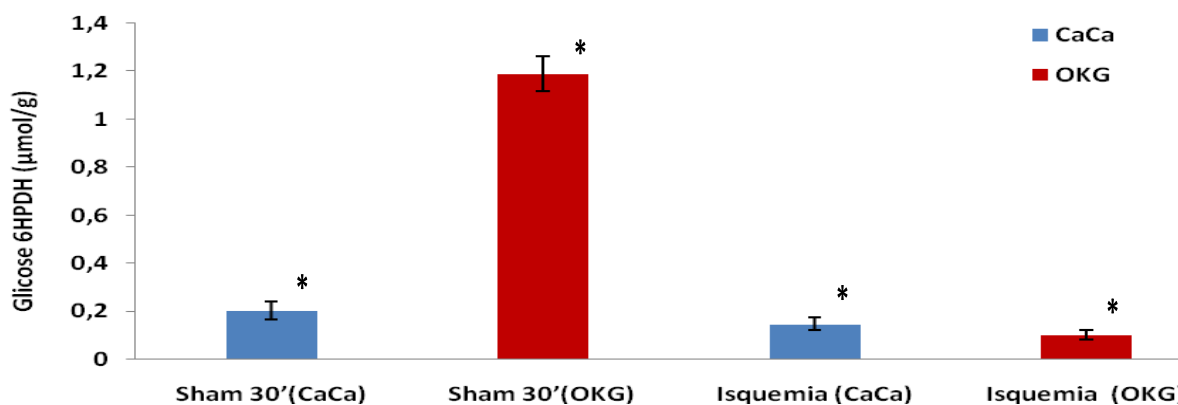


Gráfico 54 – Concentração de glicose intestino 6HPDH das análises intersubgrupos do grupo Sham 30' e Isq 30' OKG e CaCa

4.4 Efeitos do procedimento cirúrgico sobre os parâmetros do grupo Sham 60' e reperfusão trinta minutos OKG e CaCa das análises intersubgrupos

Na tabela 55 e gráfico 55 estão os valores médios da glutathiona plasma ($\mu\text{mol/mL}$) nos grupos, s60' CaCa, s60'OKG, reperfusão 30' (r30'CaCa) e reperfusão 30' (r30'OKG). Não houve diferença significativa ($p>0,05$) na avaliação intergrupos e intragrupos.

Tabela 55 - Concentração da glutathiona plasma ($\mu\text{mol/mL}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 60', R 30' OKG e CaCa.

Sham 60' (CaCa)	Sham 60' (OKG)	Reperfusão 30' (CaCa)	Reperfusão 30' (OKG)
15,89 \pm 0,87	15,95 \pm 0,81	18,20 \pm 0,77	17,04 \pm 0,24

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM). Médias equivalentes ($P>0,05$) pelo teste t de Student.

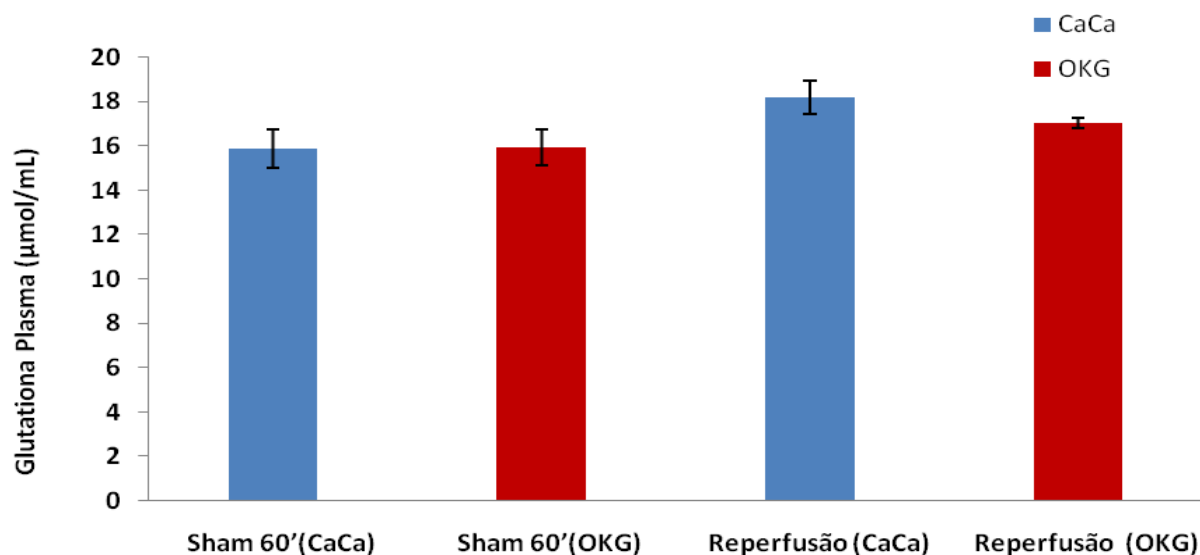


Gráfico 55 – Concentração da glutathiona plasma das análises intersubgrupos do grupo Sham 60' R 30' OKG e CaCa

Na tabela 56 e gráfico 56 estão os valores médios da glutathiona intestino ($\mu\text{mol/g}$) nos subgrupos s60'CaCa, s60'OKG, r30'CaCa e r30'OKG. Nesta análise não houve significância ($p>0,05$).

Tabela 56 - Concentração da glutatona intestino ($\mu\text{mol/g}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 60', R 30' OKG e CaCa.

Sham 60' (CaCa)	Sham 60' (OKG)	Reperusão 30' (CaCa)	Reperusão 30' (OKG)
47,97 \pm 4,91	39,97 \pm 5,05	35,15 \pm 1,83	35,85 \pm 0,24

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM). $P > 0,05$ pelo teste pelo teste de Kruskal-Wallis

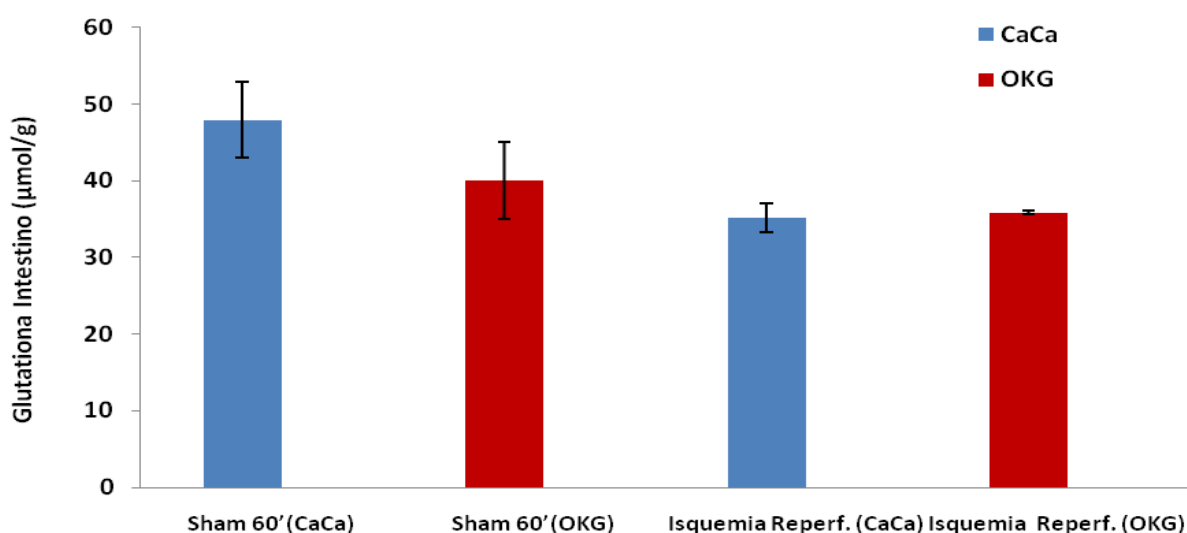


Gráfico 56 – Concentração da glutatona intestino ($\mu\text{mol/g}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 60', R 30' OKG e CaCa

Na tabela 57 e gráfico 57 estão os valores médios do acetoacetato plasmático ($\mu\text{mol/ml}$) nos grupos, s60' CaCa e OKG e, r30' CaCa e OKG. Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) nesta análise inter grupos e intragrupos tanto dos animais tratados como dos animais controle.

Tabela 57 - Concentração do acetoacetato plasmático ($\mu\text{mol/ml}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 60'.

Sham 60' (CaCa)	Sham 60' (okg)	Reperusão 30' (CaCa)	Reperusão 30' (okg)
0,0595 \pm 0,01	0,0553 \pm 0,01	0,0893 \pm 0,01	0,0625 \pm 0,02

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM). $p > 0,05$ pelo teste de Kruskal-Wallis.

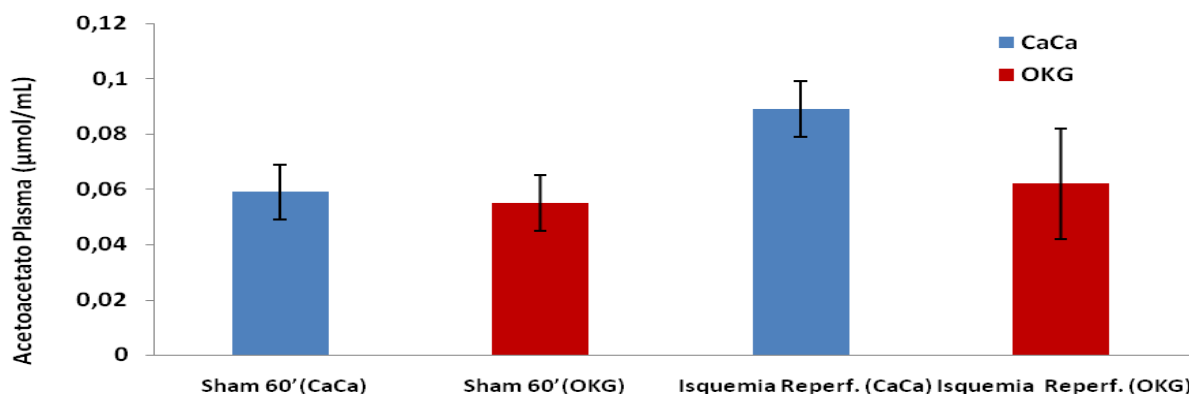


Gráfico 57 – Concentração do acetoacetato plasmático das análises intersubgrupos do grupo Sham 60', R 30' OKG e CaCa

Na tabela 58 e gráfico 58 estão os valores médios da acetoacetato intestino ($\mu\text{mol/g}$) nos grupos, s60' CaCa e OKG, r30'CaCa e OKG. Houve variação significativa ($p<0,05$) na análise inter grupo e intra grupos entre os animais tratados e animais controle. $P<0,05$ entre r30'CaCa e r30'OKG. $p<0,05$ entre s60'CaCa e s60'OKG. Maior elevação no r30'CaCa.

Tabela 58 - Concentração da acetoacetato intestino ($\mu\text{mol/g}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 60', R 30' OKG e CaCa.

Sham 60' (CaCa)	Sham 60' (OKG)	Reperusão 30' (CaCa)	Reperusão 30' (OKG)
0,048 \pm 0,013 d	0,063 \pm 0,01 c	0,156 \pm 0,03 a	0,128 \pm 0,04 b

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM). * $p<0,05$ ^d Médias com pelo menos uma letra comum são equivalentes pelo teste pelo teste de Kruskal-Wallis.

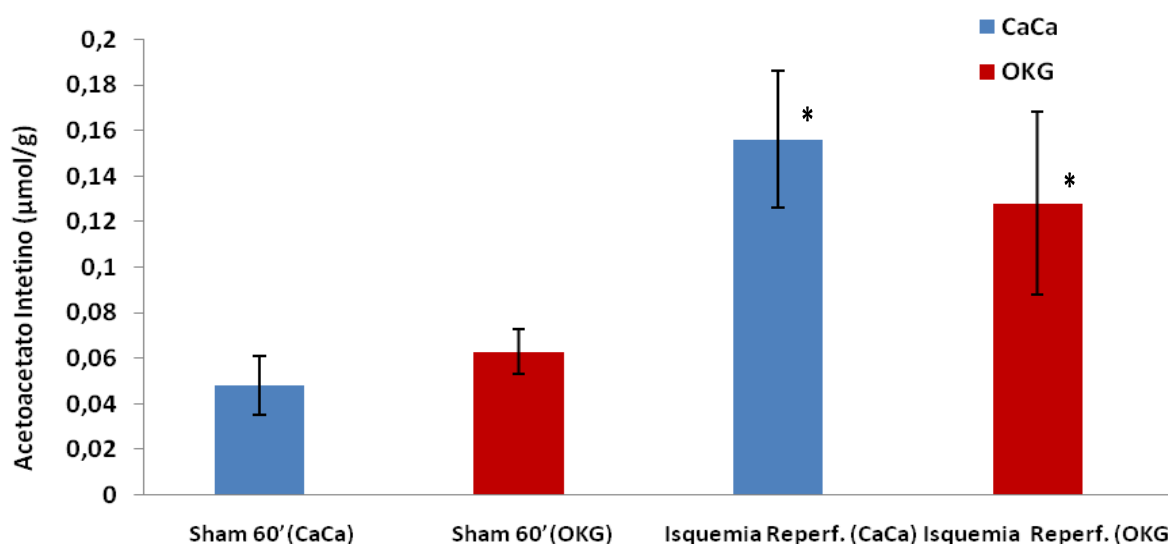


Gráfico 58 – Concentração da acetoacetato intestino das análises intersubgrupos do grupo Sham 60', R 30' OKG e CaCa

Na tabela 59 e gráfico 59 estão os valores médios da piruvato plasma ($\mu\text{mol/ml}$) nos grupos s60'CaCa e OKG, r30'CaCa e OKG. Houve variação significativa ($p<0,05$) na comparação inter grupos e intra grupos. $P<0,05$ entre s60'CaCa e s60'OKG. $p<0,05$ entre r30'CaCa e r30'OKG.

Tabela 59 - Concentração da piruvato plasma ($\mu\text{mol/ml}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 60', R 30' OKG e CaCa.

Sham 60' (CaCa)	Sham 60' (OKG)	Reperusão 30' (CaCa)	Reperusão 30' (OKG)
0,1278 \pm 0,014 d	0,238 \pm 0,017 a	0,156 \pm 0,017 b	0,146 \pm 0,024 c

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM). ^d Médias com pelo menos uma letra comum são equivalentes pelo teste t de Student.

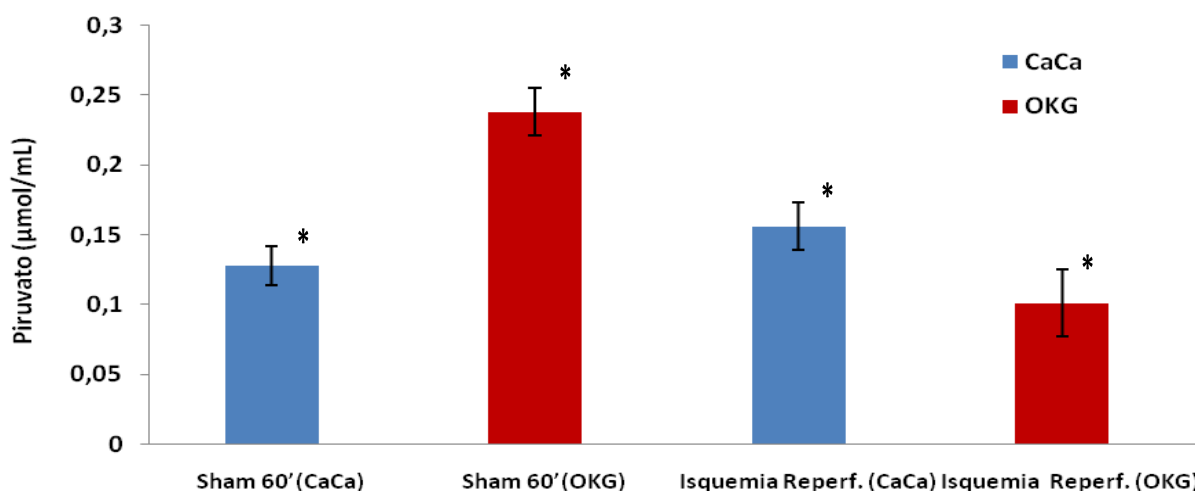


Gráfico 59 – Concentração da piruvato plasma das análises intersubgrupos do grupo Sham 60', R 30' OKG e CaCa

Na tabela 60 e gráfico 60 estão os valores médios da piruvato tecidual ($\mu\text{mol/g}$) nos grupos, s60' CaCa e okg r30' CaCa, r30' CaCa e OKG. Houve diferença com significância estatística ($p < 0,05$) entre s60'CaCa e s60'okg. $p < 0,05$ entre r30'CaCa e r30'OKG. Os subgrupos s60'CaCa e r30'OKG foram equivalentes.

Tabela 60 - Concentração da piruvato tecidual ($\mu\text{mol/g}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 60', R 30' OKG e CaCa.

Sham 60' (CaCa)	Sham 60' (OKG)	Reperusão 30' (CaCa)	Reperusão 30' (OKG)
0,109 \pm 0,014 b	0,236 \pm 0,01 a	0,248 \pm 0,03 a	0,094 \pm 0,02 b

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM). ^b Médias com pelo menos uma letra comum são equivalentes pelo teste pelo teste t de Student.

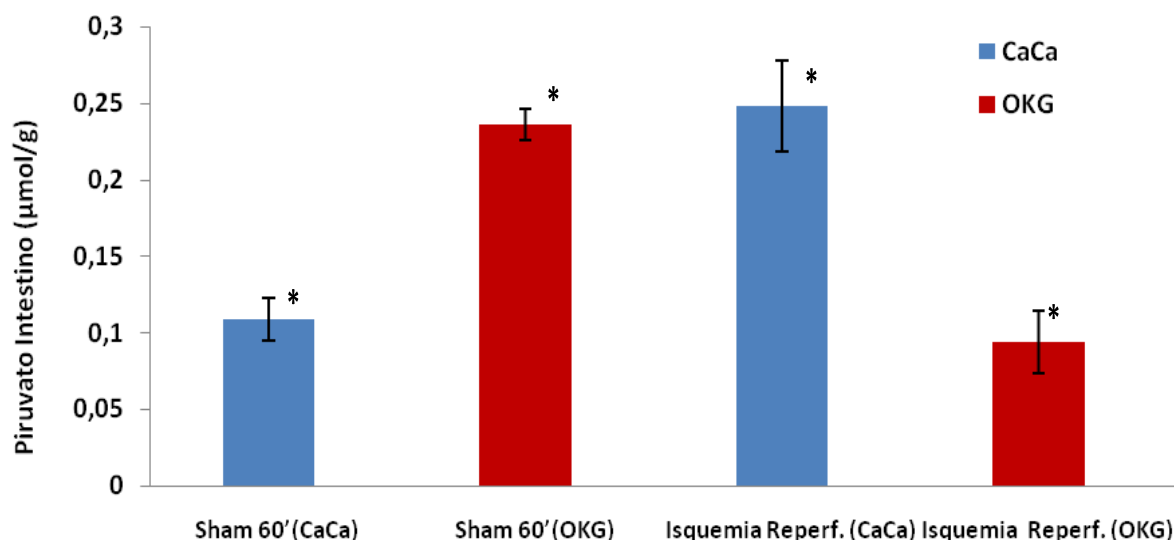


Gráfico 60 – Concentração da piruvato tecidual das análises intersubgrupos do grupo Sham 60', R 30' OKG e CaCa

Na tabela 61 e gráfico 61 estão os valores médios da CPK plasma (ui/l) nos grupos s60' CaCa e OKG e r30'CaCa e OKG. Houve variação significativa ($p < 0,05$) na análise inter grupos e intra grupos. * $p < 0,05$ entre s60'CaCa e s60'OKG. * $p < 0,05$ entre r30'CaCa e r30'OKG.

Tabela 61 - Concentração da CPK plasma (ui/l) das análises intersubgrupos do grupo Sham 60', R 30' OKG e CaCa.

Sham 60' (CaCa)	Sham 60' (OKG)	Reperusão. (CaCa)	Reperusão (OKG)
181,01±6,13 *	127,08±13,12 *	166,70±6,53 *	115,13±11,77 *

Resultados expressos em Média ± Erro Padrão da Média (EPM).

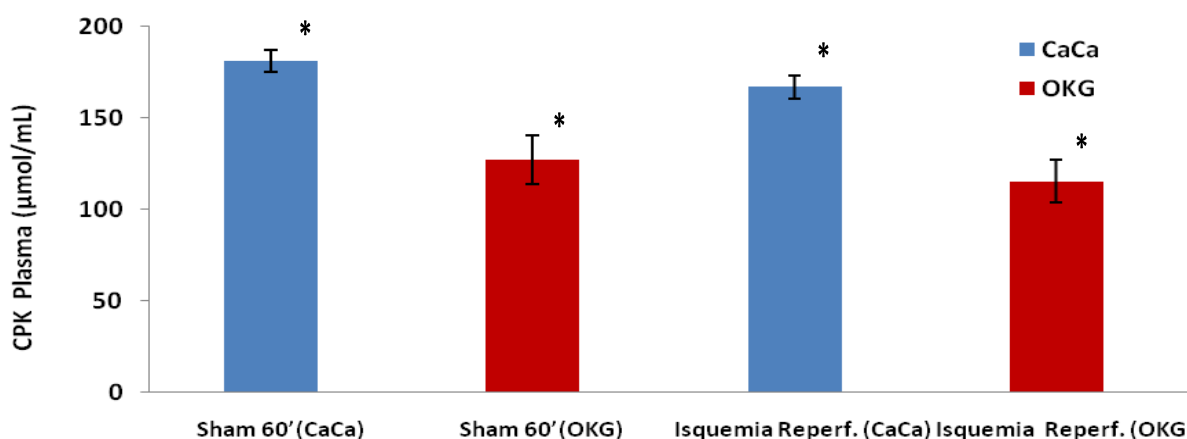


Gráfico 61 – Concentração da CPK plasma das análises intersubgrupos do grupo Sham 60', R 30' OKG e CaCa

Na tabela 62 e gráfico 62 estão os valores médios da LDH enzimática (ui/l) nos subgrupos, s60'CaCa, s60'OKG, r30'CaCa e r30'OKG. Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) nesta análise entre os subgrupos avaliados.

Tabela 62 - Concentração da LDH enzimática (ui/l) das análises intersubgrupos do grupo Sham 60', R 30' OKG e CaCa.

Sham 60' (CaCa)	Sham 60' (OKG)	Reperusão. (CaCa)	Reperusão (OKG)
239,68±27,06	266,94±24,45	356,21±42,46	294,04±26,08

Resultados expressos em Média ± Erro Padrão da Média (EPM). Médias equivalentes ($P > 0,05$) pelo teste pelo teste t de Student Kruskal-Walli

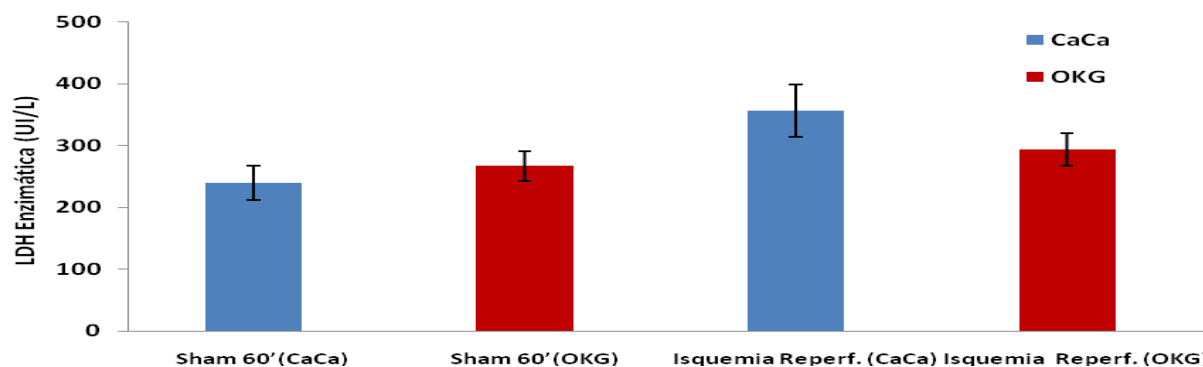


Gráfico 62 – Concentração da LDH enzimática das análises intersubgrupos do grupo Sham 60', R 30' OKG e CaCa

Na tabela 63 e gráfico 63 estão os valores médios do lactato plasma ($\mu\text{mol/mL}$) nos grupos, Sham 60' CaCa e OKG, reperfusão 30'CaCa e OKG. Não houve diferença significativa ($p>0,05$) entre os subgrupos avaliados.

Tabela 63 - Concentração do lactato plasma ($\mu\text{mol/mL}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 60', R 30' OKG e CaCa.

Sham 60' (CaCa)	Sham 60' (OKG)	Reperfusion (CaCa)	Reperfusion (OKG)
$0,775\pm 0,11$ ^{ns}	$0,460\pm 0,03$	$0,499\pm 0,11$	$0,723\pm 0,05$

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM). Médias equivalentes ($P>0,05$) pelo teste Kruskal-Wallis.

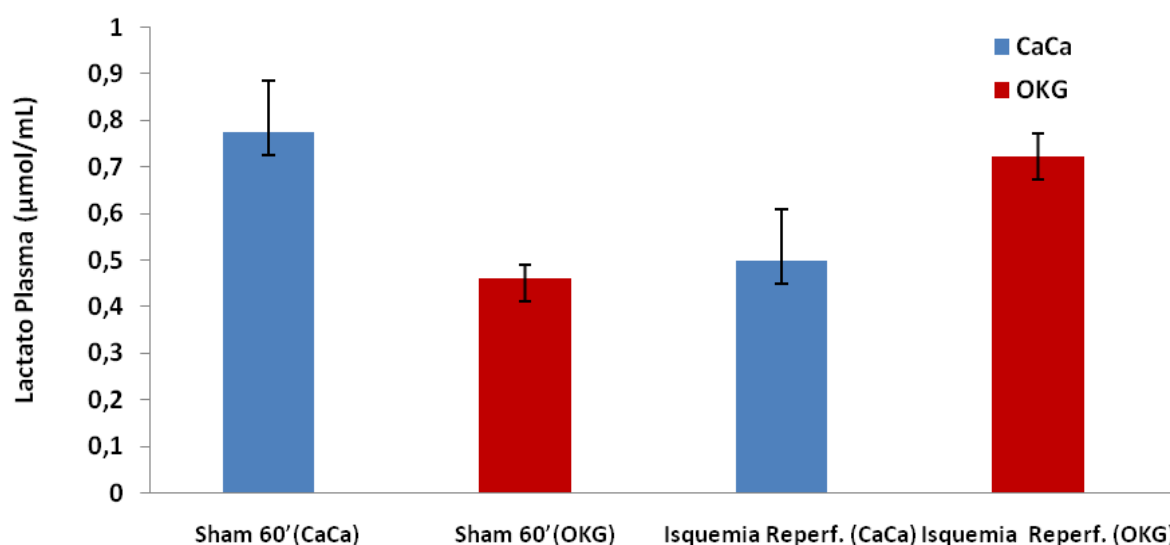


Gráfico 63 – Concentração do lactato das análises intersubgrupos do grupo Sham 60', R 30' OKG e CaCa

Na tabela 64 e gráfico 64 estão os valores médios da lactato tecidual ($\mu\text{mol/g}$) nos grupos, Sham 60'CaCa e OKG e reperfusão 30'CaCa e OKG. Houve diferença significativa ($p<0,05$) na concentração do piruvato tecidual na análise inter grupos e intragrupos. $p<0,05$ entre s60'CaCa e s60'OKG. $p<0,05$ entre r30'CaCa e r30'OKG. Menor concentração r30'OKG.

Tabela 64 - Concentração da lactato tecidual ($\mu\text{mol/g}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 60', R 30' OKG e CaCa.

Sham 60' (CaCa)	Sham 60' (OKG)	Reperfusion (CaCa)	Reperfusion (OKG)
$1,138\pm 0,13$ *	$0,438\pm 0,04$ *	$0,266\pm 0,02$ *	$0,107\pm 0,01$ *

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM). * $P<0,05$ pelo teste pelo teste t de Student

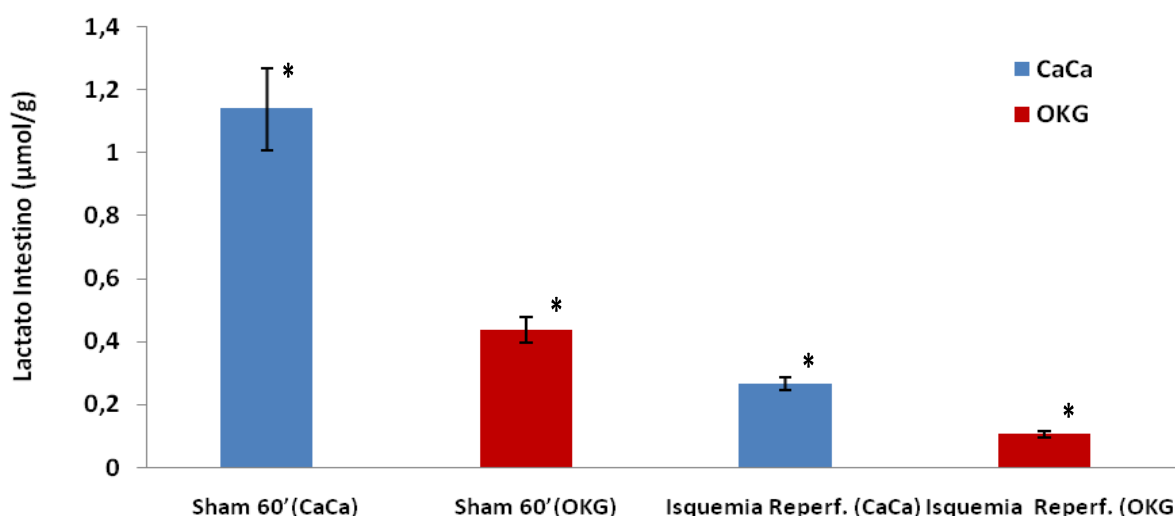


Gráfico 64 – Concentração da lactato tecidual das análises intersubgrupos do grupo Sham 60', R 30' OKG e CaCa

Na tabela 65 e gráfico 65 estão os valores médios da 3HBDH plasma ($\mu\text{mol/ml}$) nos grupos, Sham 60' CaCa e OKG, reperfusão 30'CaCa e OKG. $p < 0,05$ entre s60'CaCa e s60'OKG. $p < 0,05$ entre r30'CaCa e r30'OKG.

Tabela 65 - Concentração da 3HBDH plasma ($\mu\text{mol/ml}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 60'.

Sham 60' (CaCa)	Sham 60' (OKG)	Reperfusão 30' (CaCa)	Reperfusão 30' (OKG)
$0,0937 \pm 0,02$ a	$0,020 \pm 0,01$ b	$0,0615 \pm 0,01$ a	$0,03 \pm 0,00$ c

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM). Médias diferentes ($P < 0,01$) pelo teste Kruskal-Wallis

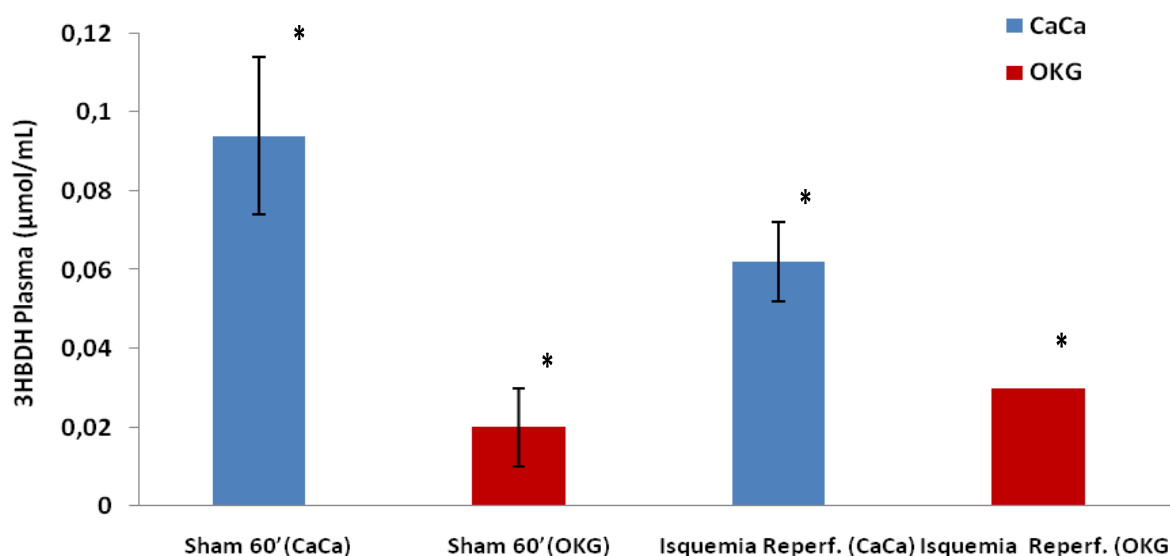


Gráfico 65 – Concentração da 3HBDH plasma das análises intersubgrupos do grupo Sham 60', R 30' OKG e CaCa

Na tabela 66 e gráfico 66 estão os valores médios da 3HBDH intestino ($\mu\text{mol/g}$) nos grupos, Sham 60' CaCa e OKG. Reperusão 30' CaCa e OKG. Não houve diferença significativa ($p>0,05$) entre os subgrupos avaliados nesta análise.

Tabela 66 - Concentração da 3HBDH intestino ($\mu\text{mol/g}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 60', R 30' OKG e CaCa.

Sham 60' (CaCa)	Sham 60' (OKG)	Reperusão 30' (CaCa)	Reperusão 30' (OKG)
0,0955 \pm 0,02	0,064 \pm 0,01	0,057 \pm 0,003	0,05133 \pm 0,005

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM). Médias equivalentes ($P>0,05$) pelo teste t de Student

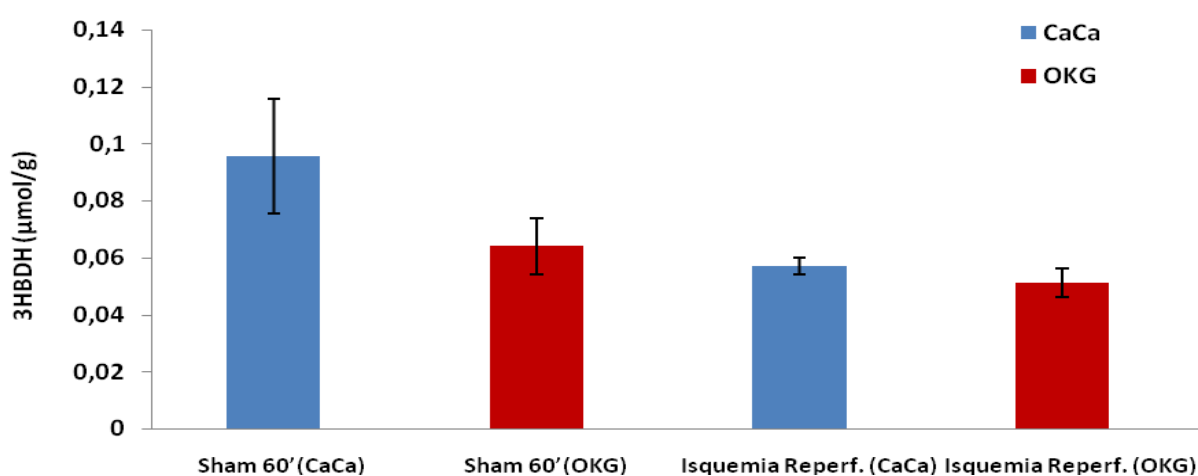


Gráfico 66 – Concentração da 3HBDH intestino das análises intersubgrupos do grupo Sham 60', R 30' OKG e CaCa.

Na tabela 67 e gráfico 67 estão os valores médios da mieliperoxidase plasmática ($\mu\text{mol/ml}$) nos grupos, Sham 60' CaCa e OKG e reperusão 30' CaCa e OKG. Houve variação significativa ($p<0,05$) na análise das concentrações dos animais tratados e não tratados. $p<0,05$ entre s60' CaCa e s60' OKG. $p<0,05$ entre r30' CaCa e r30' OKG.

Tabela 67 - Concentração da mieliperoxidase plasmática ($\mu\text{mol/ml}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 60', R 30' OKG e CaCa.

Sham 60' (CaCa)	Sham 60' (okg)	Reperusão. (CaCa)	Reperusão. (okg)
1,982 \pm 0,271 a	1,782 \pm 0,261 b	0,210 \pm 0,01 d	0,277 \pm 0,03 c

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM). ^a Médias com pelo menos uma letra comum são equivalentes pelo teste pelo teste de Kruskal-Wallis.

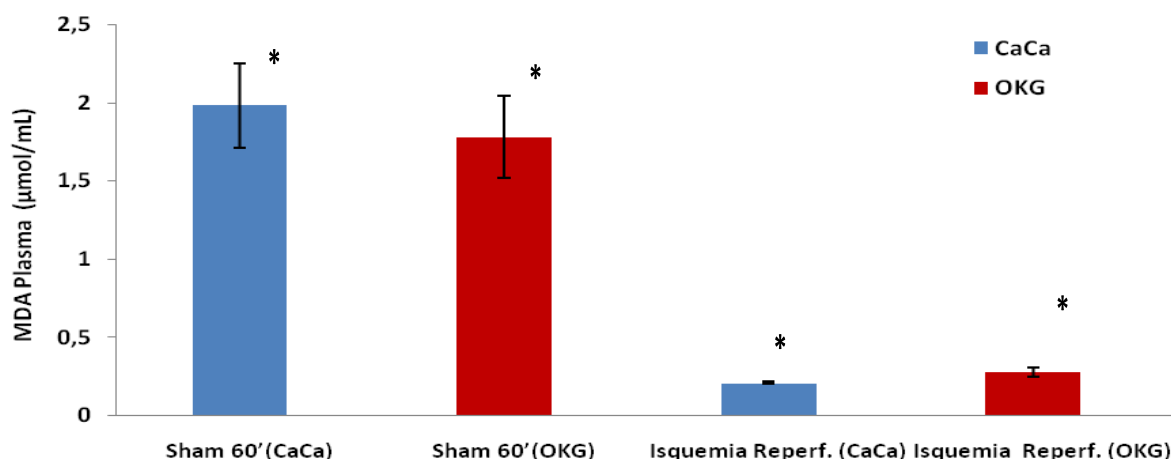


Gráfico 67 – Concentração da mieliperoxidase plasmática das análises intersubgrupos do grupo Sham 60', R 30' OKG e CaCa

Na tabela 68 e gráfico 68 estão os valores médios da T-Bars plasmática (μmol/ml) nos grupos, Sham 60'CaCa e Sham 60'OKG, e reperfusão 30'CaCa e OKG. Não houve variação significativa ($p > 0,05$) nesta análise.

Tabela 68 - Concentração da T-Bars plasmática (μmol/ml) das análises intersubgrupos do grupo Sham 60', R 30' OKG e CaCa.

Sham 60' (CaCa)	Sham 60' (OKG)	Reperfusão (CaCa)	Reperfusão (OKG)
0,0178±0,005	0,0355±0,011	0,0289±0,01	0,0243±0,006

Resultados expressos em Média ± Erro Padrão da Média (EPM). Médias equivalentes ($P > 0,05$) pelo teste t de Student

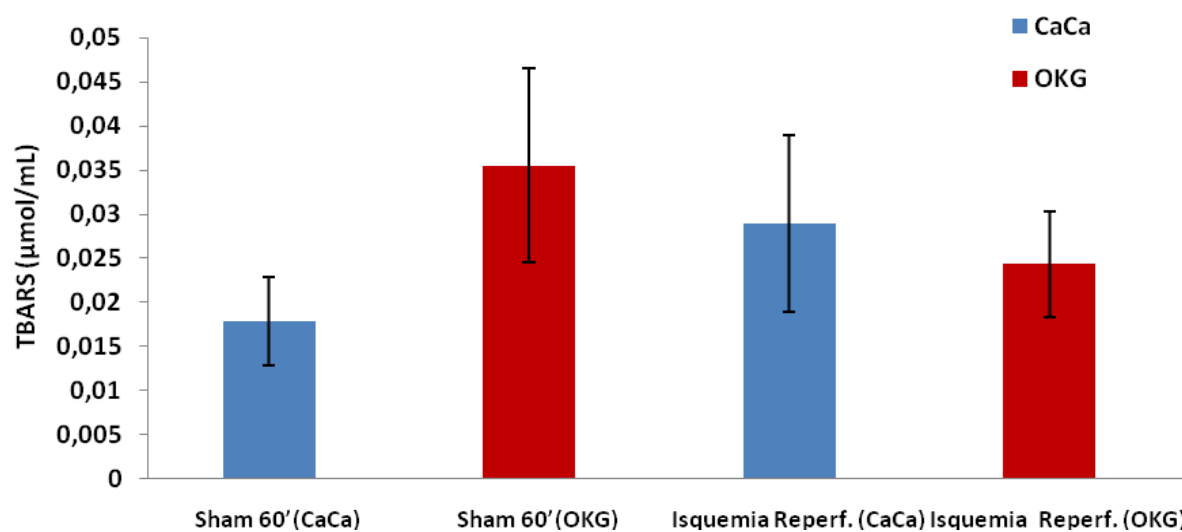


Gráfico 68 – Concentração da T-Bars plasmática das análises intersubgrupos do grupo Sham 60', R 30' OKG e CaCa

Na tabela 69 e gráfico 69 estão os valores médios da T-Bars intestino ($\mu\text{mol/g}$) nos grupos, Sham 60' CaCa, Sham 60'OKG, reperfusão 30'CaCa e reperfusão 30'OKG. Não houve significância ($p>0,05$) entre os subgrupos Sham. $p<0,05$ na comparação entre r30'CaCa e r30'OKG.

Tabela 69 - Concentração da T-Bars intestino ($\mu\text{mol/g}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 60', R 30' OKG e CaCa.

Sham 60' (CaCa)	Sham 60'(OKG)	Reperfusão (CaCa)	Reperfusão(OKG)
0,0034 \pm 0,002 c	0,0029 \pm 0,003 c	0,0745 \pm 0,02 a	0,0522 \pm 0,03 b

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM). ^c Médias com pelo menos uma letra comum são equivalentes pelo teste pelo teste de Kruskal-Wallis.

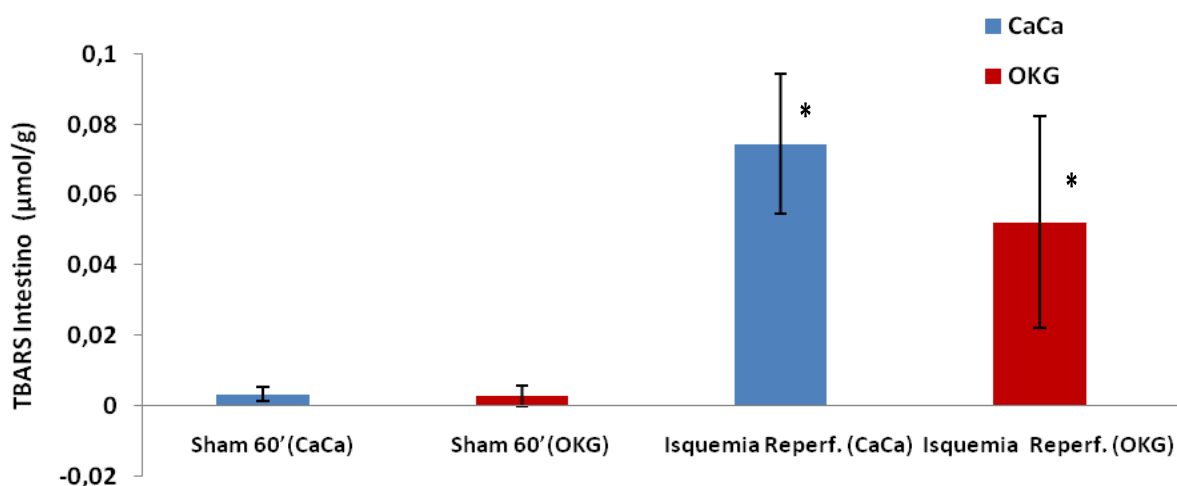


Gráfico 69 – Concentração da T-Bars intestino ($\mu\text{mol/g}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 60', R 30' OKG e CaCa

Na tabela 70 e gráfico 70 estão os valores médios da glicose enzimática ($\mu\text{mol/ml}$) nos grupos, Sham 60' CaCa, Sham 60'OKG e reperfusão 30'CaCa e reperfusão 30'OKG. Não variação significativa ($p>0,05$) na análise intragrupos e intersubgrupos.

Tabela 70 - Concentração da glicose enzimática ($\mu\text{mol/ml}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 60', R 30' OKG e CaCa

Sham 60' (CaCa)	Sham 60' (OKG)	Reperusão (CaCa)	Reperusão (OKG)
199,31 \pm 17,05	182,89 \pm 19,98	185,36 \pm 14,63	183,69 \pm 16,38

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM). Médias equivalentes ($P > 0,05$) pelo teste Kruskal-Wallis.

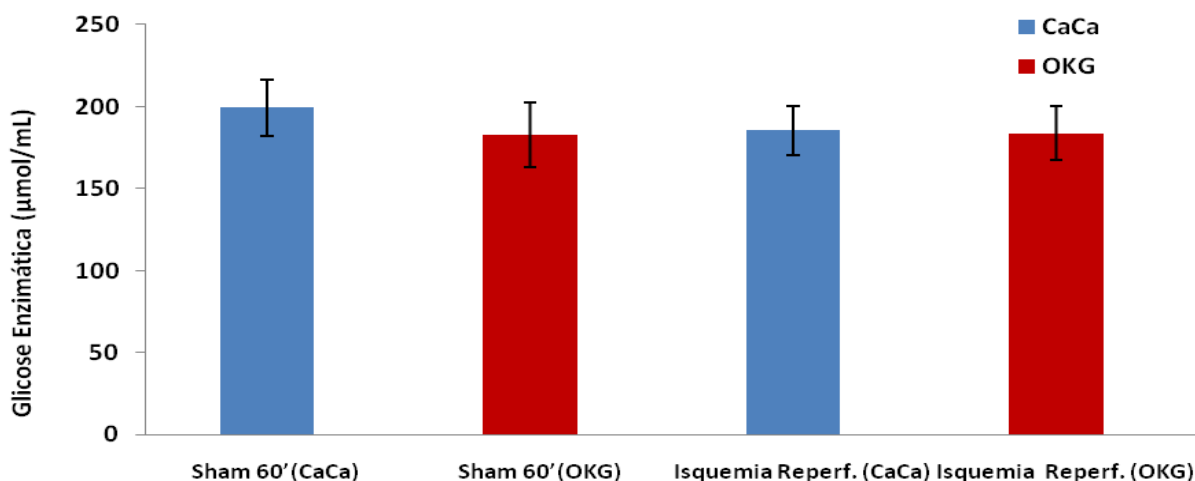


Gráfico 70 – Concentração da glicose enzimática das análises intersubgrupos do grupo Sham 60', R 30' OKG e CaCa

Na tabela 71 e gráfico 71 estão os valores médios da glicose plasma 6HPDH ($\mu\text{mol/mL}$) nos grupos, Sham 60', Isquemia e Isquemia mais reperusão nos subgrupos CaCa e OKG. Houve variação significativa ($p < 0,05$) na análise intersubgrupos e intragrupos. $p < 0,05$ entre s60'CaCa e s60'OKG e $p < 0,05$ entre r30'CaCa e r30'OKG.

Tabela 71 - Concentração da glicose plasma 6HPDH ($\mu\text{mol/mL}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 60', R 30' OKG e CaCa

Sham 60' (CaCa)	Sham 60' (OKG)	Reperusão (CaCa)	Reperusão (OKG)
0,185 \pm 0,0136 *	0,374 \pm 0,0182 *	0,3118 \pm 0,024 *	0,7967 \pm 0,01098 *

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM). $P < 0,05$ pelo teste pelo teste t de Student.

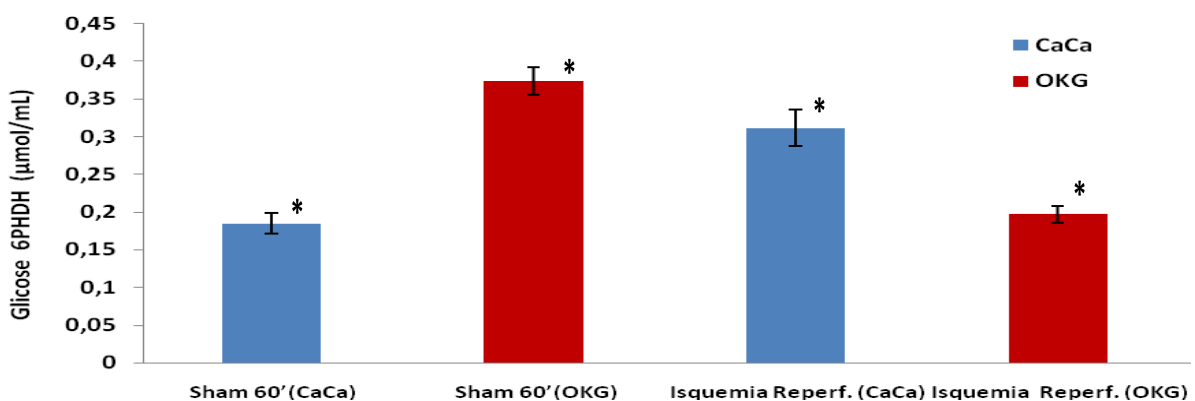


Gráfico 71- Concentração da glicose plasma 6HPDH das análises intersubgrupos do Sham 60', R 30' OKG e CaCa

Na tabela 72 e gráfico 72 estão os valores médios da glicose 6HPDH intestino ($\mu\text{mol/g}$) nos grupos, Sham 60' CaCa e okg e no grupo reperfusão 30'CaCa e okg. $p < 0,05$ entre os subgrupos s60'CaCa e s60'OKG. $p < 0,05$ entre subgrupos r30'CaCa e r30'OKG.

Tabela 72 - Concentração da glicose 6HPDH intestino ($\mu\text{mol/g}$) das análises intersubgrupos do grupo Sham 60', R 30' OKG e CaCa

Sham 60' (CaCa)	Sham 60' (OKG)	Reperfusion (CaCa)	Reperfusion (OKG)
$0,123 \pm 0,0101^{**}$	$0,361 \pm 0,0169^{**}$	$0,3015 \pm 0,0323^{**}$	$0,2132 \pm 0,027^{**}$

Resultados expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM). $P < 0,05$ pelo teste pelo teste t de Student

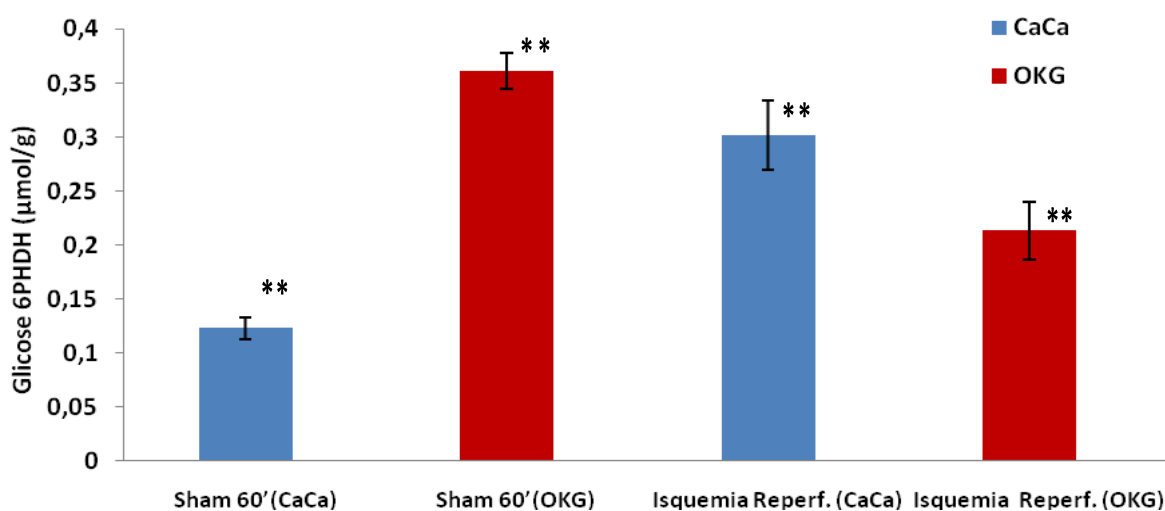


Gráfico 72 – Concentração da glicose 6HPDH intestino das análises intersubgrupos do grupo Sham 60', R 30' OKG e CaCa

5 DISCUSSÃO

Poucos modelos experimentais foram desenvolvidos para estudar melhor a fisiopatologia e o potencial terapêutico das reações e alterações decorrentes de isquemia e reperfusão intestinal. Na prática cirúrgica, ainda não existe uma terapêutica medicamentosa adjuvante efetiva, que possa ser introduzida e melhorar as alterações decorrentes da isquemia e reperfusão (HINDER; STEIN, 1991). Entretanto, a lesão de reperfusão, particularmente no intestino, diferentemente da lesão isquêmica, é capaz de produzir alteração sistêmica, e não apenas nos locais acometidos pelo fenômeno, de modo que o restabelecimento do fluxo sanguíneo para uma área isquêmica pode ocasionar lesão em todo organismo (GALVÃO et al., 1995).

Está definitivamente comprovado que os danos desencadeados pela isquemia e reperfusão tecidual representam um importante e freqüente problema de saúde, seu diagnóstico é relativamente fácil, o tratamento, porém, permanece sem uniformização nos diferentes serviços. Nos modelos experimentais de isquemia e reperfusão intestinal, o uso de alguns fármacos, principalmente daqueles que interferem ou bloqueiam radicais livres, espécies reativas do oxigênio e neutrófilos, demonstraram capacidade de inibir pelo menos parcialmente a lesão tecidual (KAÇMAZ et al., 1999; SANTOS et al., 2003).

Alguns autores sugerem que um coquetel de antioxidantes talvez seja necessário para neutralizar todas as espécies ativas de oxigênio, gerados durante a isquemia e reperfusão. Porém, são necessários novos estudos com substâncias que até aqui apresentaram resultados promissores e também com novas substâncias, no sentido de avaliar as doses ideais, as interações medicamentosas e o momento ideal para o início e término do tratamento (MORENO et al., 1991).

O presente estudo testa a OKG (Ornitina alfa ceto glutarato) na isquemia e reperfusão intestinal de ratos "*rattus norvegicus albinus*", da linhagem OUTB Wistar.

O rato Wistar foi o animal preferido, porque apresenta facilidade de trabalho, adequabilidade ao protocolo e disponibilidade. A constituição anatômica visceral do rato é bastante similar à do homem, o que permite extrapolar, em certa medida, muitos dos conhecimentos adquiridos para o homem. Além disso, é um animal resistente à anestesia tanto inalatória quanto intravenosa, apresenta porte pequeno, menor interferência hormonal, de fácil manuseio cirúrgico para abordagem das artérias e, ainda, baixo custo. Essas características favo-

recem o agrupamento de maior número de indivíduos, facilitando a avaliação estatística (CHIU et al, 1970; PARKS; GRANGER,1986; MORAES et al., 1992; YAMADA et al., 1998).

O método mais utilizado para produção da isquemia foi a obstrução arterial por meio de pinçamento vascular, seguido de estenose ou compressão vascular extrínseca, fitas cirúrgicas para liberação programada de fluxo sanguíneo, choque hipovolêmico e hipotermia. Os métodos mostraram-se eficientes, mas a preferência pelo pinçamento mesentérico talvez seja por este representar de forma mais correta à situação clínica.

A oclusão temporária por pinçamento de todo o território vascular mesentérico foi o modelo de isquemia por nós utilizado. Porém, em muitos modelos, é realizado oclusão da AMS e da AMI isoladamente e também da AMS e AMI simultaneamente. A maioria dos autores realizou obstrução da AMS (BITTERMAN; AOKI; LEFER, 1988; MACARENCO et al., 2001), mas a obstrução de outras artérias foi necessária em alguns experimentos para comparar melhor a circulação colateral, que varia conforme a espécie, de acordo com experimento realizado por Deune e Khouri (1995).

Além disso, os demais métodos podem não simular essa situação, pois dependem do pesquisador quando este controla a força aplicada na compressão e o controle da liberação programada, o que pode não ser igual em todos os animais, gerando diferentes níveis de pressão sobre as artérias e estruturas e levando a alterações nas variáveis a serem analisadas.

A determinação precisa do tempo de isquemia tem grande importância, pois a mucosa intestinal apresenta alterações de sua permeabilidade microvascular com 1 hora de isquemia, caracterizadas por edema e perda de fluídos para luz intestinal e, após 1 hora de isquemia, a mucosa é gravemente danificada e apresenta ulcerações e hemorragias (SCHOENBERG; BERGER, 1993; YONGMING et al., 1998).

Os modelos experimentais com isquemia e reperfusão mesentérica em ratos simulam todas as alterações bioquímicas e estruturais almeçadas, além de provocar distúrbio hemodinâmico importante (MACARENCO et al., 2001).

Existem poucos trabalhos na literatura com a utilização da ornitina alfacetoglutarato, droga teste. Este composto de aminoácidos (OKG), em sido usado clinicamente em pacientes

com desnutrição, cirrose hepática e queimaduras graves como precursor para a síntese de glutamina (antioxidante exógeno). Em procedimentos experimentais, já foi utilizado em modelos de isquemia-reperfusão hepática. Os animais de controle receberam um composto protéico, o caseinato de cálcio, com o objetivo de demonstrar que aminoácidos específicos induzem ações positivas sobre o metabolismo e não qualquer composto de aminoácidos.

A determinação *in vivo* nas concentrações de metabólitos plasmático e teciduais (glicose, piruvato, lactato, corpos cetônicos, ATP, TBARS, entre outros) e da uréia urinária são bons indicadores do comportamento das vias metabólicas de produção de energia, e da quebra de proteína, em reposta a grandes traumas, tendo sido por este motivo, alvo do presente estudo.

Os aminoácidos são transportados como dipeptídeos do ácido glutâmico. Nesse sistema de transporte, o glutatión (GSH) se presta como doador do grupo gama-glutamil. A formação do dipeptídeo é catalisada pela enzima gama-glutamil transpeptidase (CGT), uma enzima da membrana celular, presente, principalmente, no fígado, ducto biliar e rim. A determinação dos níveis da enzima no sangue é usada na identificação de doenças nesses órgãos. A maioria dos aminoácidos usados pelo organismo para a síntese de proteínas, ou como precursores para outros aminoácidos são obtidos da dieta ou da renovação das proteínas endógenas: Dependendo do destino destes aminoácidos, eles podem ser classificados como aminoácidos glicogênicos (quando participam da gliconeogênese), cetogênicos (quando geram corpos cetônicos) e glico-cetogênicos (quando a rota metabólica leva à formação de glicose e de corpos cetônicos) (MEISTER, 1988).

No fígado, o glutamato desidrogenase está localizada na mitocôndria, onde têm início as reações do ciclo da uréia. A enzima catalisa a incorporação de amônia, como grupo amino, no alfa-cetoglutarato gerando glutamato e utiliza NADPH como coenzima, envolvendo consumo de ATP. A reação reversa é catalisada pela mesma enzima utilizando NAD como coenzima (KIMURA et al., 1988).

Amônia livre é tóxica e é, preferencialmente, transportada no sangue, na forma de grupos amino ou amida, incorporados em aminoácidos. A glutamina representa cinquenta por cento desses aminoácidos circulantes. A produção de glutamina é catalisada pela glutamina sintetase, que utiliza glutamato e amônia como substrato. A remoção da amônia - na reação reversa - é feita pela glutaminase (KIMURA et al., 1988).

Neste estudo, são discutidas as alterações nas concentrações no sangue e no tecido do intestino delgado submetidos à isquemia e reperfusão, de vários metabólitos (citados anteriormente) após o trauma cirúrgico, trinta minutos de isquemia normotérmica, em ratos, seguida por 30 minutos de reperfusão, assim como, o efeito da ornitina alfacetoglutarato (OKG) por gavagem antes dos procedimentos. Efeitos do procedimento cirúrgico sobre os parâmetros metabólitos plasmáticos e teciduais do grupo Sham, ou seja, como o trauma cirúrgico da laparotomia exploradora inicial afetou o metabolismo dos animais tratados e controle em função do tempo; 0', 30' e 60'.

A resposta orgânica ao estresse grave é complexa e integrada e sua finalidade básica é a restauração da homeostase. Na maioria dos casos, a resposta é harmônica e ordenada, conduzindo o organismo à cura, pois uma resposta generalizada do hospedeiro frente a um processo inflamatório, por exemplo, é necessária para a recuperação rápida das estruturas lesadas. No entanto, quando a resposta é excessiva, pode ocorrer um desequilíbrio profundo da homeostase, com bloqueio metabólico de vários órgãos, e a resultante final é a morte (WAXMAN, 1995; HILL; HILL, 1998).

Vários estudos demonstraram a presença de eficácia diante da suplementação enteral e parenteral de glutamina em condições de intenso catabolismo. Estudos com animais, com esse objetivo, demonstraram existir melhora no crescimento e recuperação do intestino delgado, na mucosa dos cólons, com também da atrofia pancreática (SOUBA et al., 1985).

5.1 Avaliação das concentrações de metabólitos no plasma e tecido intestinal no grupo Sham 0', 30', 60', 130' e 180' OKG e CaCa

A CPK apresentou variação com elevação significativa nos subgrupos Sham CaCa 0', 30', 60' e 180', diferindo do Sham OKG, onde a enzima creatino-fosfoquinase não apresentou variação. É possível que a progressiva elevação da CPK nos tempo 0', 30', 60' e 180' dos animais do grupo controle tenha sido devido à necessidade de geração de ATP a partir de fosfocreatina como resposta ao trauma cirúrgico. A creatinoquinase (CK), também conhecida como creatinofosfoquinase (CPK) tem um papel chave no transporte de energia nas células musculares. Em comparação aos tecidos musculares, cerebral e cardíaco, a sua concentração no intestino pode ser considerada mínima (MOTTA *et al.*, 2000).

A creatino fosfato tem por função armazenamento e produção imediata de energia, em presença da CPK, quando existe aumento da demanda; o que correlaciona a elevação da CPK ao trauma, isquemia e reperfusão (HARRIS; SÖDERLUND; HULTMAN, 1992; ELY *et al.*, 2000; MOTTA, 2000). A CPK elevou-se devido às lesões de isquemia e manteve-se elevada nos subgrupos OKG e CaCa. No grupo reperfusão apresentou redução significativa na sua concentração nos animais tratados, o que demonstra ação antioxidante da OKG sobre o metabolismo da creatino fosfato.

A LDH é uma enzima presente em vários tecidos, em particular no músculo esquelético, músculo cardíaco fígado e eritrócito, mas também nos rins, ossos e pulmões. Isoladamente a enzima não é específica para nenhum órgão. Qualquer intensidade de hemólise é prejudicial, pois o extravasamento de enzimas eritrocitárias incrementa a atividade total da LDH no plasma. A LDH apresentou elevação significativa na sua concentração no i30'OKG. A sua concentração no plasma diminuiu no s30'OKG e no i30'CaCa, não variando de maneira significativa na análise intra grupo na reperfusão 30' nos animais tratados e não tratados. Normalmente a LDH aumenta menos rapidamente que a CPK, mas também mantém os valores elevados por mais tempo. A enzima desidrogenase láctica participa da glicólise anaeróbica e elevou-se em resposta ao trauma cirúrgico. A elevação da LDH foi, entretanto, associada por Motta (2000) ao trauma, lesões musculares e exercícios físicos intensos, todos em situações onde ocorre aumento na demanda e aumento do metabolismo anaeróbico da glicose.

Após a reperfusão a metabolização do piruvato a lactato diminui de importância, com isso a LDH, o piruvato e o lactato mantêm concentrações próximas às iniciais. Surpreendentemente a glutatona não apresentou elevação significativa no plasma, talvez por aumento do consumo no tecido lesado.

Os corpos cetônicos, produto do metabolismo dos ácidos graxos, são o hidroxibutirato, acetoacetato e acetona. Em situação onde há escassez de energia, o acetoacetato, produzido normalmente no metabolismo dos ácidos graxos, não pode ser metabolizado e sofre redução a hidroxibutirato ou descarboxilação até acetona. É evidente a importância dos dois principais corpos cetônicos, o acetoacetato e o hidroxibutirato, no papel de combustíveis metabólicos. Em humanos, o jejum costuma induzir elevação dos níveis desses substratos no sangue, como forma de adaptação metabólica para a preservação da vida (FIGUEIREDO; VASCONCELOS, 1998).

No presente estudo, o tratamento com OKG promoveu alterações com elevação significativa nas concentrações plasmática e tecidual do acetoacetato no tempo s30' em relação aos animais controle, sugerindo, ou maior produção deste metabólito pelo fígado ou menor captação e utilização por tecidos afins. Houve redução significativa do acetoacetato tecidual no tempo isquemia e isquemia/epperfusão dos animais recipientes da OKG indicando maior captação deste metabólito pelo tecido intestinal. A possível maior captação pelo tecido intestinal dos animais recipientes da OKG sugere a utilização deste metabólito para produção de energia, o que reforça a importância deste no papel de combustível metabólico. Nos animais não tratados, não houve variação significativa na concentração de acetacetato plasmático em nenhum dos tempos avaliados. No tempo i30

No tecido intestinal dos animais tratados com OKG a concentração de acetoacetato no sham 60' foi significante maior que a encontrada nos animais do Sham 60' caseinato de cálcio. Houve também elevação significativa no r30'CaCa, o que tende a demonstrar uma provável utilização de outros metabólitos na produção de energia como o piruvato e o lactato.

A L-glutamina apresenta diversas funções bioquímicas ligadas à síntese de energia, pois pode converter-se em precursores necessários à produção de ATP (energia), como por exemplo, pode ser convertida a L-glutamato através da enzima glutaminase. O L-glutamato, por sua vez, será convertido a alfa-ceto-glutarato, composto que participa do Ciclo de Krebs (ou ciclo do ácido cítrico), via pela qual é sintetizada energia. Da mesma forma, o alfa-ceto-glutarato pode receber um grupo amina (radical que contém nitrogênio), convertendo-se a L-glutamato. A finalidade deste processo é a eliminação da amônia proveniente da degradação de todos os aminoácidos produzidos e ingeridos pelo organismo. Assim, o L-glutamato sofre uma reação denominada desaminação oxidativa, onde “perde” a amônia e esta sofrerá novas reações metabólicas, que resultará na produção de uréia, excretada pelos rins (HONG, 1991).

De modo geral, a severidade das lesões de isquemia e reperfusão são inversamente proporcionais ao conteúdo celular de glutathione no período pré isquemia. Na fase de isquemia, com os níveis de glutathione aumentados pela suplementação de glutamina as lesões de reperfusão estarão consideravelmente atenuadas. Tais resultados corroboram com a função protetora da glutamina nos danos orgânicos da isquemia e reperfusão (ADAMS *et al.*, 1983).

Durante a isquemia o intestino, como a maioria dos tecidos, depende da glicólise anaeróbia para produzir ATP; todavia, este processo gera apenas 2 moles de ATP para cada

mol de glicose metabolizado. É, também, um processo limitado, pois o acúmulo de lactato e a mudança no potencial redox da célula, pelo acúmulo da nicotinamida-adenina-dinucleotídeo na forma reduzida (NADH), inibem a reação glicolítica (OWEN et al., 1990).

O glutamato, anaeróticamente, poderia participar de uma reação de transaminação juntamente com o piruvato para formar alanina e alfa-cetoglutarato (SANBORN et al., 1979). No grupo de reperfusão, o lactato apresentou redução significativa no r30'okg quando comparado ao subgrupo controle, demonstrando, portanto, a ação proglicolítica aeróbica do alfa-cetoglutarato. O maior consumo de glicose com oferta de okg é justificado por conversão de glutamina em glutamato no intestino delgado por meio da enzima glutaminase. O glutamato participaria, ainda, no metabolismo do aspartato na "Lançadeira do Malato". Nesta via o aspartato seria transaminado em presença de alfa-cetoglutarato (okg) para formar glutamato e oxalacetato. O oxalacetato, por sua vez, seria reduzido a malato com regeneração do NADH/NAD⁺, este, no citoplasma, permite a continuação da via glicolítica e, portanto, a maior produção de ATP durante a glicólise anaeróbia (SNAITH et al., 1992).

A oferta de glicose exógena apenas ocasiona uma redução em torno de 50% na produção de ATP (glicólise anaeróbia). As causas deste descontrole são um aumento na produção, uma perda da ação supressiva da glicose exógena na produção endógena deste substrato. Simultaneamente, ocorre uma grande mobilização de substratos da periferia incluindo o lactato, piruvato e os aminoácidos gliconeogênicos (proteólise), tais como a alanina e a glutamina (DEMLING et al., 2000).

O piruvato é um substrato energético com reconhecidas propriedades citoprotetoras. Sabe-se hoje que isso se deve não só à sua ação antioxidante, mas também ao fato de reduzir a acidose intracelular. Porém, só recentemente é que se começou a compreender a importância das mitocôndrias na ocorrência destas alterações benéficas, sendo que os mecanismos concretos de atuação do piruvato a nível mitocondrial estão ainda largamente por esclarecer (DEMLING et al., 2000).

Se o organismo estiver com uma quantidade adequada de oxigênio, o piruvato entrará na via do ciclo do ácido cítrico, já com falta de oxigênio nos músculos e o piruvato será transformado em lactato, finalizando seu papel metabólico (LEHNINGER, 2002).

Nos organismos aeróbicos, ou tecidos aeróbicos, o piruvato, metabólito central do metabolismo dos carboidratos e lipídios, é oxidado com perda do seu grupo carboxila como CO_2 , para liberar o grupo acetila da acetil-CoA, a qual é então totalmente oxidada a CO_2 pelo ciclo do ácido cítrico. Os elétrons originados dessas oxidações são passados para o O_2 através de uma cadeia transportadora na mitocôndria, formando H_2O . A energia liberada nas reações de transferência de elétrons permite a síntese de ATP nas mitocôndrias.

A concentração do piruvato plasmático elevou-se de maneira significativa nos animais do Sham sessenta minutos OKG. Nos subgrupos isquemia trinta minutos (i30') e reperfusão trinta minutos (r30'), houve redução significativa na concentração do piruvato com o uso da OKG. Este efeito pode ser imputado a uma maior metabolização aeróbica sistêmica deste, induzida pela OKG. Mais uma vez confirmando o efeito pró-glicolítico sistêmico e a efetividade do modelo de isquemia.

O aumento significativo das concentrações de piruvato tecidual no subgrupo i30'OKG comparado ao controle sugere menor utilização do piruvato pelo tecido isquêmico. Nestas condições, o piruvato oriundo da fase preparatória da glicólise, não pode ser oxidado por falta de oxigênio, sendo, portanto, reduzido a lactato. Com o restabelecimento da oxigenação no período de reperfusão, grande parte do piruvato foi metabolizado pela via aeróbica para obtenção de energia, justificando, portanto, a menor concentração de piruvato nos animais tratados em comparação aos animais não tratados (LEHNINGER, 1995).

No presente estudo, houve redução estatisticamente significativa do piruvato tecidual no grupo reperfusão trinta minutos (r30') tratado com OKG, provavelmente por ter sido utilizado pela via aeróbica estimulada pela oferta da droga teste, considerando-se que o lactato se mostrou reduzido no mesmo período. Portanto, o piruvato, oriundo da fase preparatória da glicólise pode ser oxidado pelo refluxo de oxigênio, diminuindo sua concentração no subgrupo tratado quando comparado ao subgrupo controle.

Na sequência do mesmo estudo, podemos observar redução significativa do lactato tecidual nos animais tratados com okg no tempo reperfusão trinta minutos (r30') quando comparados com o subgrupo controle. Tais resultados presumem uma maior atividade glicolítica no intestino dos animais pré-tratados com OKG, levando, portanto, a maior oxidação do piruvato tecidual e como resultado, menor produção de lactato e sua liberação para o sangue.

No presente estudo foram observadas alterações significantes na lactacemia entre os grupos estudados, com elevação significativa do lactato plasmático no grupo i30'OKG em decorrência da lesão de isquemia. O aumento na concentração de lactato no plasma nos animais recipientes da OKG em relação aos animais não tratados pode ser decorrente do aumento da captação deste metabólito pelo tecido hepático, provavelmente devido a uma ativação do Ciclo de Cori no período pós-isquemia. Esse fato é corroborado pelo aumento das concentrações musculares de lactato em ratos após queimaduras, provavelmente devido à ativação da glicólise anaeróbica (BARBOSA; GUIMARÃES; VASCOCELOS; 2003).

O lactato plasmático apresenta elevação significativa no grupo isquemia 30'OKG e no sham 30'OKG, e o lactato tecidual se eleva de maneira significativa no grupo reperfusão 30'dos animais tratados, justificando maior produção de energia através da glicólise anaeróbica. No subgrupo pós reperfusão dos animais tratados (r30'OKG) o lactato tecidual apresenta queda significativa, o que pode representar queima aeróbica do piruvato (estimulada pela OKG), levando a maior conversão deste em acetil-CoA para produção de energia no ciclo de Krebs, evitando a formação de lactato e reforçando a ação pró-glicolítica aeróbica (CYNOBER, 1995)

Os RLO, moléculas altamente reativas, em função de suas propriedades oxidativas podem agir diretamente sobre os componentes lipídicos das membranas celulares com tendência de gerar reações em cadeia para produzir espécies radicais resultando em uma amplificação do processo que culmina com um efeito destrutivo sobre a célula. Este fenômeno também pode se processar indiretamente através de radicais lipídicos peroxidados, além de outros produtos da fragmentação lipídica que por si só são agentes oxidantes (BULKEY, 1983).

A T-BARS tecidual apresenta queda significativa no grupo sham 30'OKG e elevação significativa no grupo isquemia trinta minutos OKG. No grupo reperfusão dos animais recipientes da OKG apresenta redução significativa demonstrando inicialmente a efetividade do modelo de isquemia/reperfusão, e no segundo momento, o efeito citoprotetor tecidual da OKG com redução da magnitude do estresse oxidativo e menor peroxidação lipídica. A proteção da membrana celular é obtida, pelo somatório dos efeitos metabólicos pró-glicolíticos da OKG, devido a um possível aumento na síntese de glutamina induzida pela alfa-cetoglutarato levando à proteção antioxidante no intestino isquêmico.

A glutathiona (GSH) é um tripeptídeo (g-glutamil-cisteinil-glicina) que tem como funções a manutenção da atividade celular, a detoxificação de compostos xenobióticos e a ação contra radicais livres (COMPORTI et al., 1991). O glutamato é transportado precariamente através da membrana celular e a glutamina atravessa facilmente esta membrana. O glutamato intracelular tem como fonte a glutamina pela ação da glutaminase. A depleção de glutamina provoca diretamente uma redução no conteúdo da glutathiona celular comprovando que uma adequada oferta de glutamina é fundamental para síntese de glutathiona (HONG et al., 1991).

A glutathiona tecidual apresentou elevação significativa apenas no subgrupo que recebeu OKG no s30', não diferindo de maneira significante entre os demais subgrupos, que se mantiveram em níveis comparados ao basal. O efeito da OKG pode ser direto, como um análogo da glutathiona tecidual, ou indireto, porque ela é considerada um precursor da glutamina. As medidas de glutathiona permitiram verificar que não houve alterações nas concentrações na presença da OKG no tecido isquêmico. Desta forma, poderia se pensar na hipótese de que a OKG atua diretamente protegendo o dano celular.

As concentrações de CPK apresentaram variação significativa nos grupos Sham 0', 30' e 60' caseinato de cálcio e alfa-cetoglutarato. A creatino fosfo quinase foi significativamente diminuída com uso da okg no subgrupo reperfusão trinta minutos (r30') quando comparados com o subgrupo dos animais que receberam caseinato de cálcio. Estes fatos evidenciam: primeiro, a efetividade do modelo de isquemia, onde a CPK é considerada um bom parâmetro para a avaliação de isquemia muscular, coincidindo com os estudos de Ely et al. (2000) e de Motta (2000). Por outro lado a okg levou a uma diminuição significativa na concentração de CPK em relação ao subgrupo controle de reperfusão, o que reforça o efeito protetor celular sistêmico da OKG.

A LDH apresenta variação significativa das suas concentrações nos grupos sham 0', 30' e 60' tanto entre os animais que receberam OKG quanto caseinato de cálcio, com menor concentração no subgrupo sham 30'OKG. Houve elevação significativa na concentração da LDH no subgrupo isquemia trinta minutos (i30') dos animais tratados quando comparados ao subgrupo dos animais não tratados, o que sugere uma maior utilização do metabolismo para geração de energia através da glicólise anaeróbica. Esta enzima eleva-se na glicólise anaeróbica, na via da fermentação do ácido lático (MOTTA, 2000), sua aparente queda no subgrupo

reperfusão dos animais pré-tratados, presume-se ter sido pela influência da OKG, através do aumento do metabolismo aeróbico sistêmico da glicose, provavelmente através da estimulação da lançadeira malato-aspartato sistemicamente. Nota-se, então, a ação pró-glicolítica aeróbica sistêmica da OKG, coincidindo com os resultados obtidos por Alves et al (2003), em humanos. Estes autores publicaram estudo utilizando a L-alanil glutamina em pacientes submetidos à revascularização de membros acometidos por isquemia crônica, onde foi descrito o efeito pró-glicolítico aeróbico deste precursor da glutamina.

Grande parte do ATP ofertado às células isoladas de mucosa intestinal (50 a 60%) é proveniente da glicose, quando esta foi ofertada juntamente com a glutamina. Entretanto, a maior parte da energia produzida a partir da glicose (78%) foi produzida pela glicose anaeróbica (FLEMING, 1997).

A glicose plasmática não apresentou variação significativa na sua concentração sérica nas comparações intergrupos e intragrupos dos animais tratados com OKG quando comparados entre si e aos subgrupos caseinato de cálcio, porém, foi evidenciada uma elevação significativa no subgrupo tratado por OKG no Sham trinta minutos (s30)' quando comparado ao subgrupo controle, evidenciando, assim como na LDH, um efeito pró-glicolítico sistêmico da OKG em conformidade com o estudo publicado por Alves et al. (2003). Possivelmente a maior oferta de glutamina a partir da OKG desencadeou a ativação da lançadeira malato-aspartato, com conseqüente elevação da concentração de NAD⁺ no citosol, levando a maior conversão de glicose a piruvato nos tecidos periféricos, caracterizando aumento da glicólise aeróbica sistêmica.

Houve elevação significante na concentração da Glicose 6PDH tecidual no Sham 30' e Sham 60' dos animais tratados. A queda significante da tanto no subgrupo isquemia trinta minutos (i30') quanto no reperfusão trinta minutos (r30') demonstra que o trauma de isquemia/reperfusão foi intenso o suficiente para bloquear o início da via glicolítica, onde atua a G6PDH e a OKG não conseguiu reverter esta queda na glicólise, o que vem ao encontro de estudos clássicos, como os de Haimovici (1960), onde é exposto que a lesão de reperfusão pode ser mais grave quando comparada à lesão isquêmica.

A mieloperoxidase, pela reação com peróxido de hidrogênio, forma radicais livres e substâncias oxidantes citotóxicas difusíveis que promove dano oxidativo dos tecidos (NICHOLLS et al., 2005). O estudo da atividade da mieloperoxidase no plasma não demonstrou

diferença significativa entre os grupos sham 0', 30' e 60', nem no tempo isquemia dos animais tratados e não tratados. A redução da sua concentração foi significativa no tempo reperfusão, tanto dos animais recipientes da OKG como também nos animais do grupo controle, o que parece demonstrar uma menor intensidade de reposta inflamatória durante o trauma de reperfusão.

No presente estudo as doses administradas foram bem acima de doses nutracêuticas, questiona-se qual seria a dose ideal para prevenção de lesões de isquemia e reperfusão em ratos e, finalmente, considerando o composto de teste ser utilizado clinicamente para suporte nutricional em humanos, como utilizá-lo em isquemia e reperfusão de pacientes?

6 CONCLUSÕES

A OKG é capaz de reduzir significativamente as concentrações do piruvato e do lactato tecidual, no período de reperfusão trinta minutos, dos animais tratados em relação aos animais não tratados.

A OKG é capaz de reduzir a magnitude do estresse oxidativo e promover atenuação da peroxidação lipídica no período de reperfusão dos animais tratados.

A oferta exógena da OKG não determina alteração significativa nas concentrações plasmática de glicose no período I/R.

REFERÊNCIAS

- AAKHUS, T. The value of angiography in superior mesenteric artery embolism. **Br J Radiol**, v.39, p.928-932, 1966.
- AHREN, C.; HAGLUND, U. Mucosal lesions in the small intestine of the cat during low flow. **Acta Physiol Scand**, v. 88, p.541-550, 1973.
- 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.
- ANADOL, A. Z.; BAYRAM, O.; DURSUN, A.; ERCAN, S. Role of endogenous endothelin peptides in intestinal ischaemia-reperfusion injury in rats. **Prost Leukot Essent Fatty Acids**, v.59, n.4, p. 279-283, 1998.
- ARKS, D. A.; GRANGER, D. N. Ischemia-induced vascular changes: role of xanthine oxidase and hydroxyl radicals. 1983. **Am Physiol Gastrointes. Liver Physiol**, v. 245, p. G285-G289, 1983.
- BALLS, M. Replacement of animal procedures: alternatives in research, education and testing. **Lab Anim**, v.28, n.3, p. 193-211, 1994.
- BELLENGER, C.R. - The ethics of using animals in biomedical research. **Med J Aust**, v. 158, n.4, p.222-224, 1993.
- BITTERMAN, H.; AOKI, N.; LEFER, A. M. Anti-shock effects of human superoxide dismutase in splanchnic artery occlusion (SAO) shock. **Proc Soc Exp Biol Med**, v.188, n.3, p.265-271, 1988.
- BOHLEN, G. Intestinal tissue PO₂ and microvascular responses during glucose exposure. **Am J Physiol**, v. 238, p. 164-171, 1980.
- BOLEY, S. J.; BRANDT, L. J.; SAMMARTANO, R. J. History of mesenteric ischemia: The evaluation of a diagnosis and management. **Surg Clin North Am**, v.77, n.2, p.275-288, 1997.
- BRADLEY, J. R.; THIRU, S.; POBER, J. S. Disparate localization of 55-kd and 75-kd tumor necrosis factor receptors in human endothelial cells. **Am J Pathol**, v.146, n.1, p. 27-32, 1995.
- BRANDT, L. J.; BOLEY, S. J. Colonic ischemia. **Surg Clin North Am**, v.72, n.1, p.203-229, 1992.
- CHIU, J. C.; MCARDLE, H. Á.; BROWN, R.; SCOTT, J. H.; GURD, N. F. Intestinal mucosal lesion in low-flow states. **Arch Surg**, v.101, p.478-483, 1970.

CICALESE, L.; LEE, K.; SCHRAUT, W.; WATKINS, S.; BORLE, A.; STANKO, R. Pyruvate prevents ischemia-reperfusion mucosal injury of rat small intestine. **Am J Surg**, v.171, p.97-101, 1996.

COHEN, C. The case for the use of animals in biomedical research. **New Eng J Med.**, v.315, p. 865-870, 1986.

COMPORTI, M.; MAELLARO, E.; DEL BELLO, B.; CASINI, A. F. Glutathione depletion: its effect on other antioxidant systems and hepatocellular damage. **Xenobiot**, v.21, n.8, p.1067-1076, 1991.

COSTER, J.; McCAULEY, R.; HALL, J. Role, of specific amino acids in nutritional support. **J Surg.**, v. 73, p. 846-849, 2003.

COTRAN, R.; KUMAR, V.; ROBBINS, S. **Robbins' patologia estrutural e funcional**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996.

CYNOBER, L. A. Amino acid metabolism and therapy in health and nutritional disease. In: CYNOBER, L. A. **The metabolic fate of glutamine in clinical nutrition**. Boca Raton: CRC, 1995. p. 385-395.

CZERNICHOW, B.; NSI-EMVO, E.; GALLUSER, M.; GOSSÉ, F.; RAUL, F. Enteral supplementation with ornithine [alpha]-ketoglutarate improves the early adaptive response to resection. **Gut**, v. 40, p. 67-72, 1997.

DE BANDT, J. P.; COUDRAY-LUCAS, C.; LIORET, N.; LIM, S. K.; SAIZY, R.; GIBOUDEAU, J et al. A randomized controlled trial of the influence of the mode of enteral ornithine alpha-ketoglutarate administration in burn patients, **J Nutr**, v.128, n.3, p.563-569, 1998.

DEMLING RH, SEIGNE P. Metabolic management of patients with severe burns. **World J Surg** . p.24:673-80, 2000.

DEUNE, E. G.; KHOURI, R. K. Rat strain differences in flap tolerance to ischemia. **Microsurgery**, v.16, p.765-776, 1995.

DEVLIN, T. M. **Textbook of biochemistry with clinical correlations**. 4th ed. New York: Wiley & Sons, 1997.

DE OCA, J.; BETTONICA, C.; CUADRADO, S.; VALLET, J.; MARTIN, E.; GARCIA, A. Effect of oral supplementation of ornithine-[alpha]-ketoglutarate on the intestinal barrier after orthotopic small bowel transplantation. **Transplantation**, v. 63, p. 436-439, 1997.

DORMANDY, J.; HEECK, L.; VIG, S. et al. Acute limb ischemia. **Semin Vasc Surg**, v.12, p.148-53, 1999.

DURANTON, B.; SCHLEIFFER, R.; GOSSE, F.; RAUL, F. Preventive administration of ornithine alpha-ketoglutarate improves intestinal mucosal repair after transient ischemia in rats. **Critic Care Med**, v.26, n.1, p.120-125, 1998.

EARSE, D. J.; HUMPHREY, S. M.; CHAIN, E. B. Abrupt reoxygenation of the anoxic potassium-arrested perfused rat heart: a study of myocardial enzyme release. **J Mol Cell Cardiol**, v. 5, n. 4, p. 395-407, 1973.

ELLIOT, J. W. The operative relief of gangrene of the intestine due to occlusion of the mesenteric vessels. **Ann Surg**, v.21, p.9-23, 1895.

ELY, J. F.; WEBSTER, R. S.; PAVELECINI, M.; LUCAS, M. Alterações enzimáticas decorrentes da isquemia muscular esquelética em ratos. **Acta Cir Bras**, v. 15, n. 3, p. 163-168, 2000.

FAGUNDES, D. J.; PLAPLER, H.; GOLDENBERG, S. Small bowel and colon glucose absorption study in rats by an adaptation of Sols and Ponz method. **Rev Esp Fisiol**, v.47, n.3, p.129-132, 1991.

FELIPO, V.; BUTTERWORTH, R. F. Neurobiology of ammonia. **Prog Neurobiol**, Washington, v. 67, n. 4, p.259-279, 2002.

FERRARI, R. Pathophysiological vs biochemical ischaemia: a key to transition from reversible to irreversible damage. **Eur Heart J**, v. 3, suppl., p. C2- C10, 2001.

FLYNN, N. E.; WU, G. Enhanced metabolism of arginine and glutamine in enterocytes of cortisol-treated pigs. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol**, v. 272, p.474-480, 1997.

FORTES, W. A. G., 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 e revascularização distal. **Acta Cir Bras**, v.18, n.3, p.209-215, 2003.

GALVÃO, F. H. F.; WAITZBERG, L. D.; LAGULO, F. A.; SEMENTILLI, A.; ROMPENSO, C. S.; LIMA-GONÇALVES, E. Alterações histopatológicas do intestino delgado após preservação hipotérmica com as soluções da Universidade de Wisconsin e Euro-Collins: estudo experimental. **Rev Ass Med**, v.41, p. 187-192, 1995.

GÜNEL, E. ÇAĞLAYAN, O. ÇAĞLAYAN, F. Serum D-lactate levels as a predictor of intestinal ischemia-reperfusion injury. **Pediatr Sur Int**, v. 14, n.2, p. 59-61, 1998.

GUTE, D. C.; ISHIDA, T.; YARIMIZU, K.; KORTHUIS, R. J. Inflammatory responses to ischemia and reperfusion in skeletal muscle. **Mol Cell Biochem**, v. 179, n. ½, p. 169-187, 1998.

HAGLUND, U.; HULTEN, L.; AHREN, C.; LUNDGREN, O. Mucosal lesion in the human small intestine in shock. **Gut**, v.16, p.979-894, 1975.

HAIMOVICI, H. Arterial embolism with acute massive ischemic myopathy and myoglobinuria. **Surgery**, v. 47, p. 739-747, 1960.

HARRIS, R. C.; SÖDERLUND, K.; HULTMAN, E. Elevation of creatine in resting and exercised muscle of normal subjects by creatine supplementation. **Clin Sci**, v. 83, n. 3, p. 367-374, 1992.

HARWARD T.R.; COE, D.; SOUBA, W.N. et al. Glutamine reserves but glutathione levels during intestinal ischemia and reperfusion. **J Surg Vasc**, v. 56, p. 351-355, 1994

HAWKINS, R. A.; PETERSON, D. R.; VINA, J. R. The complementary membranes forming the blood-brain barrier. **IUBMB Life**, v.54, n.3, p.101-107, 2002.

HILL, A. G.; HILL, G. L. Metabolic response to severe injury. **Br J Surg**, v.85, p. 884-890, 1998.

HINDER, R. A.; STEIN, H. J. Oxygen derived free radicals. **Arch Surg**, v.126, p.104-145, 1991.

ROTH MERTEN, A.; KARNER, J.; WINKLER, S.; VALENTINI, L.; SHAUPP, K.; ROTH, E. Influence of [alpha]-ketoglutarate infusion on glutamate and glutamine metabolism. **Clin Nutr.**, v. 9, p. 46-47, 1990.

ROTH, E.; KARNER, J.; ROTH MERTEN, A.; WINKLER, L.; VALENTINI, L.; SHAUPP, K. Effect of [alpha]-ketoglutarate infusion on organ balances of glutamine and glutamate in anaesthetized dogs in catabolic state. **Clin Sci.**, v. 80, p. 625-631, 1991.

HUSAIN, S. R.; CILLARD, J.; CILLARD, P.; Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoids. **Phytochem.**, v.26, n.9, p. 2489-2491, 1987.

JORDÃO JUNIOR, A. A.; CHIARELLO, P. G.; BERNARDES, M. S. M.; VANNUCCHI, H. Peroxidação lipídica e etanol: papel da glutathiona reduzida e da vitamina E. **Med**, v. 31, p. 343-349, jul./set. 1998.

KAÇMAZ, M.; OZTURK, H. S.; KARAAYVAZ, M.; GUVEN, C.; DURAK, I. Enzymatic antioxidant defense mechanism in rat intestinal tissue is changed after ischemia-reperfusion. Effects of an allopurinol plus antioxidant combination. **Can J Surg**, v.42, p.427-431, 1999.

KEIGHLEY, M. R. B. Isquemia do colo e colite isquêmica. In: KEIGHLEY, M. R. B.; WILLIAMS, N. S. **Cirurgia do ânus, reto e colo**. São Paulo: Manole, 1998. p.1846-1866.

KIMURA, R. E.; LAPINE, T. R.; JOHNSTON, J.; ILICH, J. Z. The effect of fasting on rat portal venous and aortic blood glucose, lactate, alanine and glutamine. **Pediatr Res**, v.23, p.241-244, 1988.

KREBS, H. A. Metabolism of aminoacids. The synthesis of glutamine from glutamic acid and ammonia and the enzymic hydrolysis of glutamine in animal tissues. **Biochem J.**, v.29, n.8, p. 1951-1969, 1935.

KUBES, P.; SUZUKI, M.; GRANGER, D. N. Nitric oxide: an endogenous modulator of leukocyte adhesion. **Proc Natl Acad Sci.**, v.88, p.4651-4655, 1991.

KUZU, M. A.; TANIK, A.; KALE, I.T.; ASLAR, A. K.; KOKSOY, C.; TERZI, C. Effect of ischemia/reperfusion as a systemic phenomenon on anastomotic healing in the left colon. **World J Surg**, v. 24, p. 990-994, 2000.

KVAMME, E.; TORGNER, I. A.; ROBERG, B. Kinetics and localization of brain phosphate activated glutaminase. **J Neurosci Res**, v.66, n.5, p.951-958, 2001.

LE BOUCHER, J.; COUDRAY-LUCAS, C.; LASNIER, E.; JARDEL, A.; EKINDJIAN, O. G.; CYNOBER, L. A. Enteral administration of ornithine [alpha]-ketoglutarate or arginine [alpha]-ketoglutarate: a comparative study of their effects on glutamine pools in burn-injured rats. **Crit Care Med**, v. 25, p. 293-298, 1997.

LEHNINGER, A. L. A glicose e o catabolismo das hexoses. In: LEHNINGER, A. L. **Princípios de bioquímica**. São Paulo: Sarvier, 2002. p.297-326.

LUNDGREN, O.; HAGLUND, U. The pathophysiology of the intestinal counter-current exchanger. **Life Sci**. v. 23, p. 1411-1122, 1978.

LUYT, C. E.; MEDDAHI-PELLE, A.; HO-TIN-NOE, B.; COLLIEC-JOUAULT, S.; GUEZENNEC, J.; LOUEDEC, L. et al. Low-molecular-weight fucoidan promotes therapeutique revascularization in a rat model of critical windlimb ischemia. **J Pharmacol Exp Ther**, v. 305, n. 1, p. 24-30, 2003.

MACARENCO, R. S. S.; TAKAGI, R. U.; BARDELLA, L. C.; SEQUEIRA, J. L.; YOSHIDA, W. B. Estudo da ação do extrato de Gingko biloba e amido hidroxietílico na atenuação de alterações decorrentes de isquemia e reperfusão de órgãos esplâncnicos em ratos. **Acta Cir Bras**, v.16, p.26-31, 2001,

MAFFEI, F. H. A.; LASTÓRIA, S.; YOSHIDA, W. B.; ROLLO, H. A. **Doenças vasculares periféricas**. São Paulo: Medsi, 2002.

MARCUSON, R. W.; STEWART, J. O.; MARSTON, A. Experimental venous lesions of the colon. **Gut**, v. 13, n.1, p.1-7. 1972

MEISTER, A. Glutathione metabolism and its selective modification. **J Biol Chem**, v.263, p.17205-17208, 1988.

MONTGOMERY, A.; BORGSTRÖM, A.; HAGLUND, U. Pancreatic proteases and intestinal mucosal injury after ischemia and reperfusion in the pig. **Gastroenterol**, v. 102, p. 216-22, 1992.

MORENO, J. B. Efeito do alfa-tocoferol na atenuação da lesão de isquemia-reperfusão em membro posterior do rato [dissertação]. Botucatu: Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP; 1991.

MOTTA, V. T. **Bioquímica clínica: princípios e interpretações**. Porto Alegre: Médica Mis-sau, 2000.

MULLANE, K. M.; KRAEMER, R.; SMITH, B. Myeloperoxidase activity as a quantitative assessment of neutrophil infiltration into ischemic myocardium. **J Pharmacol Methods**, v.14, n.3, p.157-167, 1985.

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.

NORENBERG, M. D.; MARTINEZ-HERNANDEZ, A. Fine structural localization of glutamine synthetase in astrocytes of rat brain. **Brain Res**, v.161, n.2, p.303-310, 1979.

OWEN, P.; DENNIS, S.; OPIE, L. H. Glucose flux rate onset of ischemic contracture in globally underperfused rat hearts. **Circ Res**, v.66, p.334-354, 1990.

PARKS, D. A.; BULKLEY, G. B.; GRANGER, N. Role of oxygen derived free radicals in digestive tract diseases. **Surgery**, v.94, p.415-422, 1983.

PARKS, D. A.; GRANGER, D. N. Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation. **Am J Physiol**, v. 250, p.749-753, 1986.

PATERNO, F.; LONGO, W.E. The etiology and pathogenesis of vascular disorders of the intestine. **Radiol Clin North Am**, v. 46, n.5, p. 877-885, 2008.

PERRY, M. O. Compartment syndromes and reperfusion injury. **Surg Clin North Am.**, v. 68, p. 853-864, 1988.

PINHEIRO, B. V.; HOLANDA, M. A.; ARAÚJO, F. G.; ROMALDINI, H. Lesão pulmonar de reperfusão. **J Pneumol**, v.25, n.2, p.124-136, 1999.

PINHEIRO, V. B. **Alterações no metabolismo do oxigênio em um modelo de isquemia-reperfusão sistêmica em cães**. [Dissertação de Mestrado]. Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo; 1995.

RAUL, F.; GOSSÉ, F.; GALLUSER, M.; HASSELMANN, M.; SEILER, N. Functional and metabolic changes in intestinal mucosa of rats after enteral administration of ornithine [alpha]-ketoglutarate salt. **J Parenter Enter Nutr**, v.19, p.145-150, 2005.

REEDS, P. J.; BURRIN, D. G. Glutamine and the Bowel. **J Nutr**, v. 131, p.2505- 2508, 2001.

RIBEIRO, M. E.; YOSHIDA, W. B. Lesões intestinais decorrentes de isquemia e reperfusão: fisiopatologia e modelos experimentais. **J Vasc Br**, v. 4, n.2, p.183-194, 2005.

ROCH-ARVEILLER, M.; TISSOT, M.; COUDRAY-LUCAS, C.; FONTAGNE, J.; LE BOUCHER, J.; GIROUD, J. P.; CYNOBER, L. Immunomodulatory effects of ornithine [alpha]-ketoglutarate in rats with burn injuries. **Arch Surg**, v.131, n.7, p.718-723, 1996.

RUSSELL B. **História do pensamento ocidental**. São Paulo: Publicações S/A, 2001.

SANBORN, T.; GAVIN, W.; BERKOWITZ, S.; PERILLE, T.; LESCH, M. Augmented conversion of aspartate and glutamate to succinate during anoxia in rabbit heart. **Am J Physiol**, v.237:, p.H535-541. 1979;

SANTOS, C. H. M.; GOMES, O. M.; PONTES, J. C. D. V et al. Use of propofol (2,6 diisopropilphenol) as inhibitor of tissue lesion in mesenteric ischemia and reperfusion: experimental study in rats. **Acta Cir Bras**, v.18, p.347-354, 2003.

SARDINHA, W. E. **Isquemia e reperfusão da musculatura esquelética em ratos**: inibição das lesões lipoperóxidativas mediadas por radicais livres pela deferoxamina. 1994. Tese (Doutorado) – Escola Paulista de Medicina, São Paulo, 1994.

SCHOENBERG, M. H.; BERGER, H. G.. Reperfusion injury after intestinal ischemia. **Crit Care Med**, v.21, p.1376-1386, 1993.

SCHUSTER, H. et al. Does dietary ornithine α -ketoglutarate supplementation protect the liver against ischemia-reperfusion injury? **Clin Nutr**, v.24, 375-384, 2005.

SEIFTER, E.; RETTURA, G.; BARBUL, A.; LEVENSON, S. M. Arginine: an essential amino acid for injured rats. **Surgery**, v. 84, p. 224-230, 1978.

SILVEIRA, M. da; YOSHIDA, W. B. Isquemia e reperfusão em músculo esquelético. **J Vasc Br**, v.3, n.4, p.367-378, 2004.

SIMI, A. C. Isquemia intestinal. In: MAFFEI, F. H. A. **Doenças vasculares periféricas**. Rio de Janeiro: Medsi, 2002. p.1239-1257.

SNAITH, C. D.; WRIGHT, G.; LOFKIN, M. The effect of aspartate and 2-oxoglutarate upon glycolytic energy metabolites and mechanical recovery following global ischaemia in isolated rat hearts. **J Cell Mol Cardiol**, v. 24, p.305-315, 1992.

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

STEIN, W. H.; MOORE, S. The free aminoacid of human blood plasma. **J Biol Chem**, v.211, p.915-926, 1954.

SHUSTER, H.; BLANC, M.; GENTHON, C.; THÉRON, P.; BONNEFONT-ROUSSELOT, D.; LE TOURNEAU, A.; . DE BANDT, J.; CYNOBER, L. Does dietary ornithine α ketoglutarate supplementation protect the liver against ischemia-reperfusion injury ? **Clin Nutr**., v. 24, n. 3, p. 375-384. 2008.

TARDINI, D. M. S.; YOSHIDA, W. B. Lesões cerebrais decorrentes de isquemia e reperfusão na cirurgia de endarterectomia de carótida. **J Vasc Br**, v.2, n.2, p.119-128, 2003.

TRÉMOLIÈRES, J.; SCHEGGIA, E.; FLAMENT, C. L. Effects de l'alpha-caéotglutarate d'ornithinesur le bilan azoté e sur la vitesse d'oxidation de l'aéthanol. **Cah Nutr Diet**, v. 7, p. 2-7, 1972.

TOLDY, A. ATALAY, M.; STADLER, K.; SASVÁRI, M.; JAKUS2003, J et al. The beneficial effects of nettle supplementation and exercise on brain lesion and memory in rat. **J Nutr Biochem.**, 2008. In press.

UCHIYAMA, M.; MIHARA, M. Determination of malonodialdehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal. Biochem.* V. 86, n. 1, p. 271-278,1978.

VASCONCELOS, P. R. L.; SILVA, L. F. G.; MARINHO, L. E.; CAMPOS, A. B. ; MARTINS, M. C. R.; VASCONCELOS, P. R. C.; QUEIROZ, D. A. F.; CHAVES, C. R. Efeitos da L-alanil-glutamina sobre a concentração in vivo de metabólitos da via glicolítica durante a isquemia-reperusão de intestino delgado de ratos Wistar. **ABCD Arq Bras Cir Dig**, v. 15, n. 2, p. 63-66, 2002.

VISIOLI, F.; KEANEY JR., J. F.; HALLIWELL, B. Antioxidants and cardiovascular disease; panaceas or tonics for tired sheep?. **Cardiovasc Res.**, v.47, p. 409, 2000.

WAXMAN, K. Physiologic response to injury. In: SHOEMAKAR WC. **Textbook of critical care**. Philadelphia: WB Saunders, 1995. p. 1395-1402.

WEISS, S. J. Oxygen, ischemia and inflammation. **Acta Physiol Scand Suppl.**, v.548, p.9-37, 1986.

WELBOURNE, T. C. Alpha-ketoglutarate, ornithine and growth hormone displace glutamine dependent ammoniagenesis and enhance renal base generation and function. **Clin Nutr.**, v. 12, p. 49-50, 1993.

WILLIAMSON, D. H.; LUND, P.; KREBS, H. A. The redox state of free nicotinamide-adenine dinucleotide in the cytoplasm and mitochondria of rat liver. **Biochen J**, v.103, n.2, p.514-527, 1967.

WINDMUELLER, H. G.; SPAETH, A. E. Respiratory fuels and nitrogen metabolism *in vivo* in small intestine of fed rats: quantitative importance of glutamine, glutamate, and aspartate. **J Biol Chem**, v. 255, p.107-112, 1980.

WINDMUELLER, H. G.; SPAETH, A. E. Uptake and metabolism of plasma glutamine by the small intestine. **J Biol Chem**, v. 249, p.5070-5079, 1974.

WINKLER, S.; HÉLZENBEIN, T.; KARNER, J.; ROTH, E. Kinetics of organ specific metabolism of a bolus injection into the jejunum of glutamine, alpha-ketoglutarate, ornithine, and ornithine alpha-ketoglutarate. **Clin Nutr**, v.12, p. 56-57, 1993.

WRIGHT, J. G.; FOX, D.; KERR, J. C.; VALERI, C. R.; HOBSON, R. W. Rate of reperfusion blood flow modulates reperfusion injury in skeletal muscle. **J Surg Res**, v. 44, n. 6, p. 754-763, 1988.

YASSIN, I. M. M.; BARROS, D'AS, B. A. A.; PARKS, G. T.; MACCAIGUE, M. D.; LEGGETT, P, et al. Lower limb ischemia-reperfusion injury alters gastrointestinal structure and function. **Br J Med**, v.84, p.1425-1459, 1997.

YONGMING Y, YAN Y, Ye W, ZHIGUO S, ZHIYONG S. The role of gut as a cytokine-generating organ in remote organ dysfunction after intestinal ischemia and reperfusion. **Chin Med J**, v.111, p. 514-8, 1998.

ZIMMERMAN, B. J.; GRANGER, D. N. Mechanisms of reperfusion injury. **Am J Med Sci.**, v.307, n.4, p.293-304, 1994.

APÊNDICE A - PROTOCOLO

ATO OPERATÓRIO

Identificação:	Subgrupo:
Peso:	Anestesia:

Descrição do ato operatório

Início do pinçamento:	Término:	ΔT
Início da reperfusão:	Término:	ΔT

Intercorrências:
Observações:

ANEXOS

ANEXO A – MATERIAIS E EQUIPAMENTOS UTILIZADOS

1. Drogas e soluções reagentes

- Solução salina (solução de NaCl a 0,9%)
- Ornitina α -cetoglutarato solúvel - Cétornan® 5g laboratório Chiesi AS - R\$ 50,00 a caixa com 10 envelopes de 5g
- 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-trifosphato
(Boehringer Mannheim - Germany)
- Glucose-6-phosphato-dehydrogenase de Leuconostoc mesenteroides
(Boehringer Mannheim - Germany)
117 117
- Hexoquinase
(Boehringer Mannheim - Germany)
- Hydroxyburyrat-dehydrogenase de Rhodopseudomonas spheroides
(Boehringer Mannheim - Germany)
- Lactat-dehydrogenase
(Boehringer Mannheim - Germany)

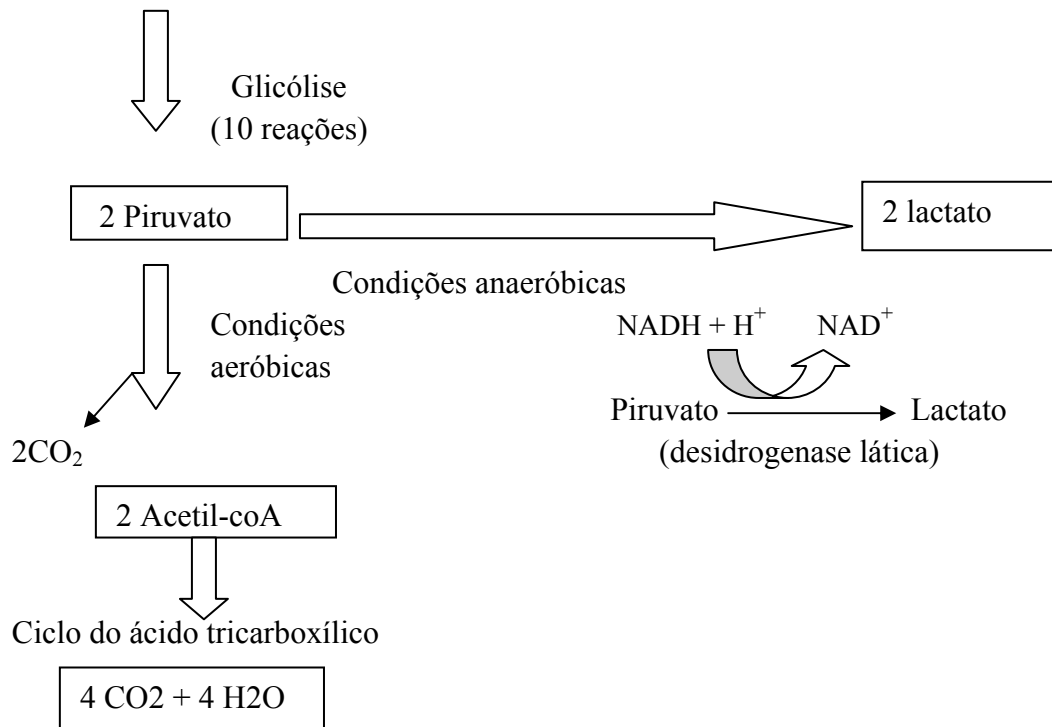
- NAD (C₂₁H₂₇N₇O₁₄P₂₃H₂O)
- (Boehringer Mannheim - Germany)

3. Aparelhagem

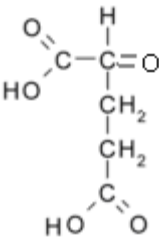
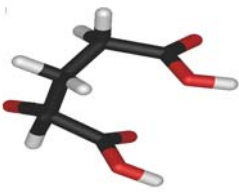
- Balança analítica (modelo H5, Mettler, Suíça)
 - Balança para analítica (tara de 0 a 2000g, Mettler P3. USA)
 - Centrífuga Eppendorf
 - Espectrofotômetro (modelo DU, Beckman, Fullerton, CA, USA) com medidor de absorvância digital e outros acessórios (Modernization System, Gilford, Oberlin, Ohio, USA)
 - Medidor de pH micronal (pH - metro B374)
 - Estetoscópio (fluxômetro) ultrassônico - Doppler
- IMBRACRIOS - EU 700 - Ind. Bras.

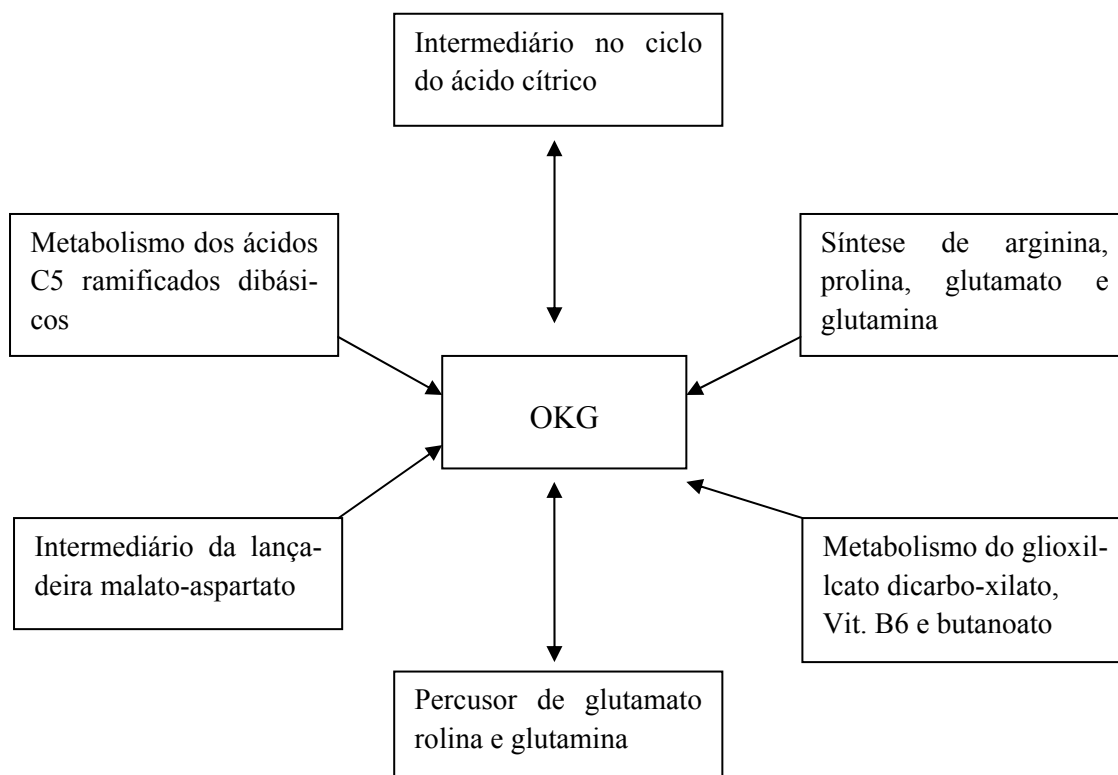
4. Diversos

- 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
- Ponteiras descartáveis para pipeta automática
- Provetas
- Becher de 10,50 e 100ml (Pyrex) 118 118
- 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^{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

ANEXO B - Metabolização da glicose

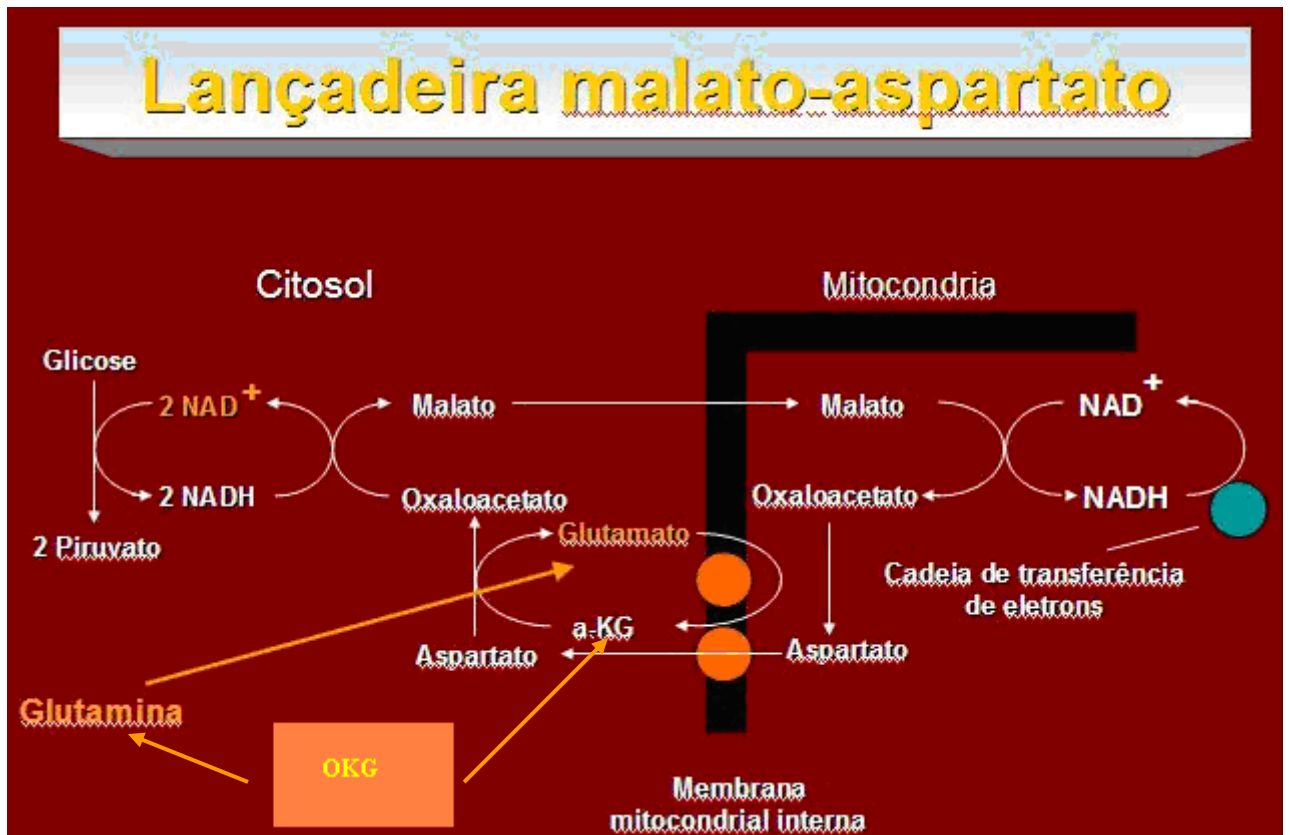
ANEXO C - Estrutura do alfa-cetoglutarato

Nomenclatura	Ácido alfa-cetoglutárico
Símbolo	A-KG
Nome químico	Ácido 2-cetoglutárico
Classificação	Aminoácido polar ácido
Estrutura Linear	 <p>The linear structure shows the chemical formula of alpha-ketoglutaric acid. It consists of a central carbon atom bonded to a hydrogen atom (H) above it, a carboxyl group (C=O and HO) to its left, and a carboxymethyl chain (CH₂-CH₂-C(=O)OH) below it.</p>
Estrutura Tridimensional	 <p>The 3D ball-and-stick model shows the spatial arrangement of the atoms in alpha-ketoglutaric acid. Carbon atoms are represented by grey spheres, oxygen by red, hydrogen by white, and the carboxyl groups are shown in a three-dimensional perspective.</p>

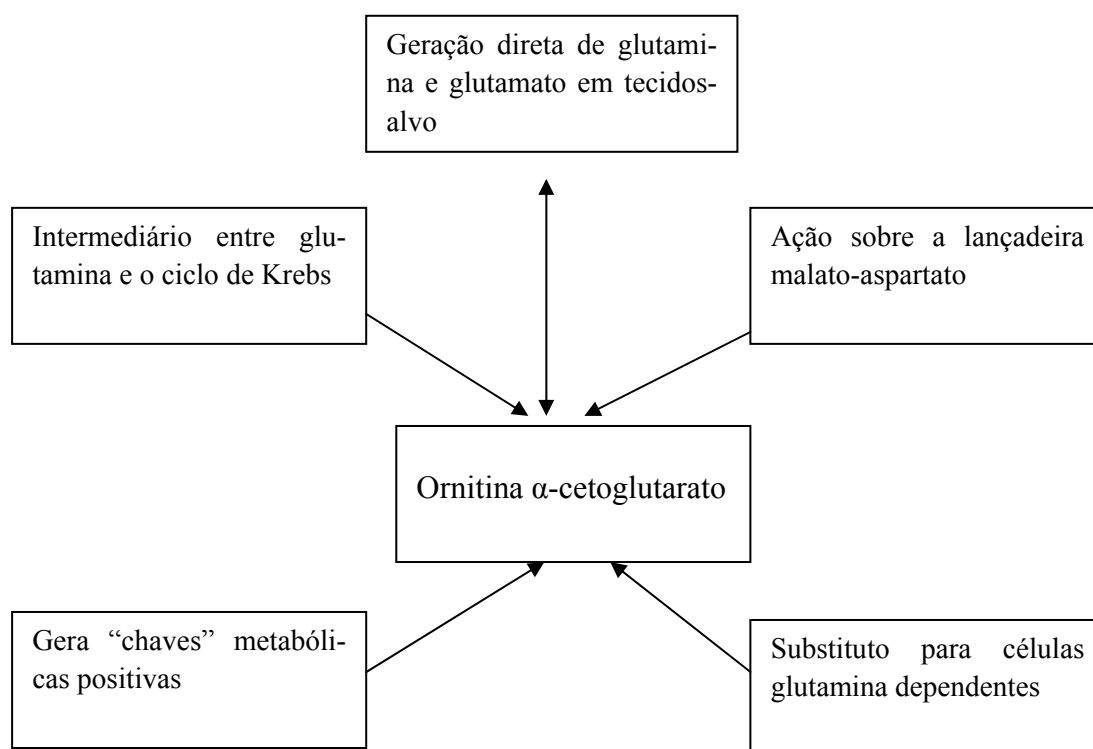
ANEXO D - Principais relações metabólicas da alfa-cetoglutarato

Fonte: STOLL; HAUSSINGER, 1989; DE BANDT et al., 1995; CYNOBER, 1995; LEHNINGER, 2002).

ANEXO E - Lançadeira malato-aspartato



Fonte: Vasconcelos, 2002

ANEXO F - Relações metabólicas da ornitina alfa-cetoglutarato

Fonte: CYNOBER, 1995; DURANTON et al., 1998; LEHNINGER, 2002).

ANEXO G – Eficácia do processo isquêmico e sutura da cavidade abdominal em plano único

