

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA

**EFEITO DA GLUTAMINA NA PERMEABILIDADE INTESTINAL,
EVOLUÇÃO CLÍNICA E TOXICIDADE RENAL EM CRIANÇAS COM
DIARRÉIA PERSISTENTE E DESNUTRIÇÃO**

AMÁLIA MARIA PORTO LUSTOSA

FORTALEZA-CE

2001

C704865
X 113 7801
03/01/02
R\$ 5,50

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

FACULDADE DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA

**EFEITO DA GLUTAMINA NA PERMEABILIDADE INTESTINAL,
EVOLUÇÃO CLÍNICA E TOXICIDADE RENAL EM CRIANÇAS COM
DIARRÉIA PERSISTENTE E DESNUTRIÇÃO**

AMÁLIA MARIA PORTO LUSTOSA

**DISSERTAÇÃO SUBMETIDA À COORDENAÇÃO DO CURSO DE PÓS-
GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA, COMO PRÉ-REQUISITO PARA
OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM FARMACOLOGIA**

**Orientador: Prof. Dr. Aldo Ângelo Moreira Lima
Co-orientadora: Profa. Dra. Maria Ceci do Vale Martins**

FORTALEZA-CE

2001

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

ESSE
646.3427
to 992
2002

UFC	BIOTECNIA RESISTÊNCIA
Nº. 1437801	
03 / 01	12002

FICHA CATALOGRÁFICA

L99e

Lustosa, Amália Maria Porto

Efeito da glutamina na permeabilidade intestinal, evolução clínica e toxicidade renal em crianças com diarreia persistente e desnutrição / Amália Maria Porto Lustosa. – Fortaleza, 2001.

111f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Aldo Ângelo Moreira Lima.

Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Ceará. Departamento de Fisiologia e Farmacologia. Curso de Pós-Graduação em Farmacologia.

1. Glutamina. 2. Permeabilidade intestinal. 3. Desnutrição. 4. Diarreia. I. Título

CDD 616.3427

**EFEITO DA GLUTAMINA NA PERMEABILIDADE INTESTINAL,
EVOLUÇÃO CLÍNICA E TOXICIDADE RENAL EM CRIANÇAS COM
DIARRÉIA PERSISTENTE E DESNUTRIÇÃO**

AMÁLIA MARIA PORTO LUSTOSA

**Aprovada com louvor
30 de março de 2001**

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Aldo Angelo Moreira Lima

1 

Profa. Dra. Maria Ceci do Vale Martins

Profa. Dra. Cristina M. G. Monte

“Eu estava faminto e você instalou um comitê para investigar a minha fome;

Eu estava sem casa e você preencheu um formulário com a minha reclamação;

Eu estava doente e você fez um seminário sobre a nutrição dos pobres;

Você investigou todos os aspectos do meu lamento e, ainda assim, eu continuo com fome, sem casa e doente.”

Lamento de um hindu anônimo, apresentado pelo professor Waterlow.

AGRADECIMENTOS

A Deus que já me proporcionou tantos momentos de felicidade.

A minha família, Diogo Lustosa (esposo) e aos meus filhos Guilherme, Gustavo e Lucas, pela paciência, ajuda e incentivo em todos os momentos desse mestrado.

Aos meus pais, Manuel Núbio Mota Porto e Maria do Patrocínio C. Porto, pelo amor e ensinamentos dos quais sempre me cercaram.

A Universidade Federal do Ceará (UFC), especialmente ao Departamento de Fisiologia e Farmacologia que me proporcionaram uma ampliação dos meus conhecimentos.

Ao meu orientador, Professor Dr. Aldo Ângelo Moreira Lima, por todo apoio, incentivo e orientação durante a pesquisa e elaboração da minha dissertação.

A minha co-orientadora, Dra. Maria Ceci do Vale Martins, pelas importantes sugestões e incentivo que me foram dados no decorrer desse trabalho e, principalmente pela amizade que tenho por ela.

Ao Hospital Infantil Albert Sabin, pela valorosa contribuição e apoio da Direção, pessoal técnico e suas instalações físicas que tornaram possível esse trabalho.

As minhas amigas, Lúcia Rabelo, Edna Marques Rocha e Hildênia Ribeiro que me ajudaram na coleta de dados e me incentivaram no decorrer dessa pesquisa.

Aos meus amigos da pós-graduação, Solane, Mila, Ana Paula, Vítor Hugo, Carlos, Elizete, Graça, Reinaldo, Milena, Luilma, Vasco, Luís Fernando, Ronaldo e Aronai, pelo apoio e parceria no decorrer do mestrado.

À administração e apoio técnico da Unidade de Pesquisas Clínicas, nas pessoas de Kátia Maria L. Nogueira, Fabiana Nascimento e José Amadeus Sousa, pela ajuda no transporte e distribuição de material da pesquisa.

A Domingos Barreto de Oliveira e Manuel Sales Barboza Jr., pela efetiva ajuda nas dosagens bioquímicas.

As funcionárias da Unidade de Recuperação Nutricional do Hospital Infantil Albert Sabin, Regina Célia Costa e Waldívia Sousa, pela presteza com que cuidaram das crianças selecionadas para o estudo.

Aos meus pequenos pacientes, que apesar das condições físicas nas quais se encontravam, me louvaram com esse trabalho.

SUMÁRIO

	LISTA DE FIGURAS	IV
	LISTA DE TABELAS	V
	RESUMO	VI
	ABSTRACT	VII
1	INTRODUÇÃO	1
1.1	Epitélio Intestinal	2
1.1.1	Funções e Dinâmica da barreira intestinal	2
1.1.2	Permeabilidade intestinal	5
1.1.3	Testes de Permeabilidade Intestinal	8
1.2	Desnutrição Protéico-Calórica	10
1.3	Doença diarréica	17
1.4	Glutamina	20
1.4.1	Histórico	20
1.4.2	Estrutura Química	21
1.4.3	Fisiologia, Metabolismo e Bioquímica	23
1.4.4	Metabolismo Intestinal da Glutamina	27
1.4.5	Glutamina e Suplementação Nutricional	29
1.4.6	Transporte Intestinal de Glutamina	30
1.4.7	Toxicidade da Glutamina	33
1.5	Terapia de Reidratação Oral	34
2	JUSTIFICATIVA	39
3	OBJETIVOS	43
3.1	Objetivo geral	44

3.2	Objetivos específicos	44
4	MATERIAIS E MÉTODOS	45
4.1	Tipo de estudo	46
4.2	Antropometria	47
4.3	Crítérios de inclusão e exclusão	47
4.4	Crítérios de saída do estudo	48
4.5	Ficha de consentimento	48
4.6	Questionário Individual	49
4.7	Protocolo Laboratorial	49
4.7.1	Coleta de sangue	49
4.7.2	Dosagem de Uréia e Creatinina	50
4.7.3	Teste de Permeabilidade Intestinal com Lactulose e Manitol ...	51
4.7.4	Cromatografia Líquida de Alta Pressão para determinação de Monossacarídeos e Dissacarídeos.	52
4.8	Grupos de Tratamento	53
4.9	Análise de Dados	54
4.10	Comissão de Ética	55
5	RESULTADOS	56
5.1	Características da população	57
5.2	Função renal	58
5.3	Efeito da solução de reidratação oral, com e sem adição de glutamina, na permeabilidade intestinal.	59
5.4	Ingestão da Solução de Reidratação Oral com e sem glutamina	68
5.5	Efeito da SRO com e sem Glutamina em relação ao ganho de peso	69
5.6	Avaliação Clínica das crianças com Diarréia Persistente e desnutrição	70

6	DISCUSSÃO	71
6.1	Desnutrição Protéico Calórica, Diarréia e Epitélio Intestinal	72
6.2	Importância do teste de Permeabilidade Intestinal com Lactulose e Manitol	75
6.3	Terapia de Reidratação Oral com e sem adição de Glutamina	77
6.4	Uso de soluções de reidratação oral com e sem glutamina e avaliação de toxicidade renal.	81
7	CONCLUSÕES	84
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	86
9	ANEXOS	108

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Epitélio intestinal mostrando a via paracelular e transcelular	6
Figura 2	Crianças com desnutrição protéico-calórica, atendidas na Unidade de Recuperação Nutricional do Hospital Infantil Albert Sabin.....	12
Figura 3	Estrutura química da glutamina e glutamato	22
Figura 4	A Glutamina participa de algumas importantes vias metabólicas do organismo	23
Figura 5	Síntese e catabolismo da glutamina nas células do epitélio intestinal.	25
Figura 6	Utilização da glutamina pelo intestino em estados normal e de stress	27
Figura 7	Protocolo de coleta de exames.....	50
Figura 8	Seqüência do Teste de Permeabilidade Intestinal	52
Figura 9	Percentual de excreção de lactulose – SRO-OMS	62
Figura 10	Percentual de excreção de lactulose – SRO-Gln	63
Figura 11	Percentual de excreção de manitol –SRO-OMS	64
Figura 12	Percentual de excreção de manitol – SRO-Gln	65
Figura 13	Percentual de excreção de lactulose/manitol – SRO-OMS	66
Figura 14	Percentual de excreção de lactulose/manitol- SRO-Gln ...	67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Sistemas de transportes de glutamina acoplados com sódio em diferentes células	33
Tabela 2	Composição das soluções de reidratação oral à base de glutamina (SRO-Gln) e da solução padrão recomendada pela Organização Mundial de Saúde (SRO-OMS)	54
Tabela 3	Características da população estudada, quanto ao sexo, idade e estado nutricional	58
Tabela 4	Avaliação da função renal com o uso das soluções de reidratação oral	59
Tabela 5	Efeito das Soluções de Reidratação Oral na área de absorção, lesão e permeabilidade intestinal	61
Tabela 6	Ingestão de Solução de Reidratação Oral (SRO) com e sem adição de Glutamina	68
Tabela 7	Efeito da glutamina no ganho de peso de crianças com diarreia persistente e desnutrição	69
Tabela 8	Avaliação Clínica das Crianças com Diarreia Persistente e Desnutrição	70

RESUMO

Efeito da glutamina na permeabilidade intestinal, evolução clínica e função renal em crianças com diarreia persistente e desnutrição – AMÁLIA MARIA PORTO LUSTOSA. Dissertação apresentada ao curso de Pós-graduação em Farmacologia do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como pré-requisito para obtenção do título de Mestre em Farmacologia. Março de 2001. Orientador: Prof. Dr. Aldo Ângelo Moreira Lima.

A desnutrição se desenvolve quando o organismo não recebe os nutrientes necessários ao seu metabolismo. A diarreia persistente é apontada como causa e efeito da desnutrição e aumenta o risco de morte quando associada a esta. A glutamina é o mais abundante aminoácido no sangue, sendo considerado a principal fonte energética e de precursores para a síntese de nucleotídeos e proteínas no epitélio intestinal. Esse estudo objetivou avaliar a permeabilidade intestinal com a utilização do teste de lactulose e manitol (L/M) em pacientes com diarreia persistente (14 dias \leq diarreia < 30 dias) e desnutrição, determinando a segurança e eficácia da glutamina, adicionada à Solução de Reidratação Oral (SRO), na recuperação da mucosa intestinal e a avaliação do ganho de peso dessas crianças. Cinquenta e duas crianças com idade entre dois e sessenta meses foram selecionadas a participar desse estudo clínico, duplo-cego, aleatório e com controle, tendo realizado dosagens de uréia e creatinina no início e no final do estudo. Destas, quarenta e uma realizaram todas as dosagens de lactulose e manitol pela técnica da Cromatografia Líquida de Alta Pressão (HPLC), antes e após o uso da SRO com glutamina (SRO-Gln) ou da SRO da Organização Mundial de Saúde (SRO-OMS). Quando comparamos os grupos controle (SRO-OMS) com o grupo teste (SRO-Gln) com relação ao manitol, encontramos tendência a uma maior perda de área de absorção intestinal com o uso da SRO-OMS em relação a SRO-Gln, embora não tenha sido encontrada significância estatística ($p = 0,849$ e $p = 0,816$ respectivamente). O grupo controle (SRO-OMS) apresentou aumento significativo com relação às dosagens de lactulose inicial e final e com relação às taxas de Lactulose/Manitol (L/M) inicial e final, com valores de $p = 0,039$ e $p = 0,044$ respectivamente. O grupo que utilizou a SRO-Gln apresentou uma diminuição, não significativa, dos valores de lactulose final em relação à inicial e uma tendência à manutenção dos mesmos valores da taxa de L/M. As dosagens de uréia e creatinina não apresentaram diferenças quando comparados os grupos experimentais e nenhum efeito colateral foi observado no decorrer do estudo. Com relação ao ganho de peso, esse estudo demonstrou que houve ganho significativo de peso no grupo que utilizou a SRO-Gln em relação ao grupo que utilizou a SRO-OMS, com valores de $p = 0,002$ e $0,33$ respectivamente. Concluiu-se que o uso de uma solução de reidratação oral à base de glutamina em crianças com diarreia persistente e desnutrição reduz a evolução da lesão intestinal, não apresenta toxicidade renal e melhora o ganho de peso dessas crianças.

Palavras-chaves : Glutamina, permeabilidade intestinal, desnutrição, diarreia, solução de reidratação oral.

ABSTRACT

Effect of glutamine in the intestinal permeability, clinical evolution and renal function in children with persistent diarrhea and malnutrition – AMÁLIA MARIA PORTO LUSTOSA. Dissertation submitted as a partial fulfillment for requirement to master's degree in Pharmacology to the Post graduation Pharmacology Course of the Physiology and Pharmacology Department of the Medicine Faculty on Federal University of Ceará. 2001, March. Professor: Dr. Aldo Ângelo Moreira Lima.

The malnutrition appears when the organism doesn't receive the necessary nutrients to its metabolism. The persistent diarrhea is pointed as cause and effect of malnutrition and it increases the death risk when associated to it. Glutamine is the most abundant amino acid in the blood, being considered the main energy source and the precursory for proteins and nucleotide synthesis in the intestinal epithelium. The objectives of this study were to evaluate the intestinal permeability with the use of Lactulose/Manitol test (L/M) in patients with persistent diarrhea (14 days < diarrhea ≤ 30 days) and malnutrition, determining the safety and effectiveness of glutamine, added to the Oral Rehydration Solution (ORS), in the recovery of those children's intestinal epithelium and the estimation of weight gain of those children. Fifty-two children aged between two and sixty months were selected to participate on this clinical trial, double blind, random and with control, having accomplished urea and creatinina measurements in the beginning and at the end of this study. However, forty-one had all the lactulose and manitol measurements using high-performance liquid chromatography with pulsed amperometric detection (HPLC-PAD), before and after the use of ORS with glutamine (ORS-Gln) or ORS of the World Health Organization (ORS-WHO). When we compared the control group (ORS-WHO) with the test group (ORS-Gln) regarding manitol, we found a tendency to a larger loss of the intestinal absorptive area with the use of ORS-WHO compared with ORS-Gln, although it has not been found statistical significance ($p = 0,849$ in control group and $p = 0,816$ in test group). The control group (ORS-WHO) had significant increase on the measurements of initial and final lactulose and on the Lactulose/Manitol (L/M) initial and final ratio, with values of $p = 0,039$ and $p = 0,044$ respectively. The test group (ORS-Gln) had a decrease, with no significance, on the values of final lactulose in relation to the initial and a tendency to the maintenance of the same values of the L/M ratio. The urea and creatinina measurements didn't present differences when compared both groups and no side effect was observed in this study. Regarding the weight, this study demonstrated a significant weight gain in the group that used ORS-Gln in relation with the group that used ORS-WHO, with values of $p = 0,002$ and $p = 0,33$ respectively. This study concluded that the use of an ORS with glutamine in children with persistent diarrhea and malnutrition reduces the evolution of the intestinal epithelium lesion, doesn't cause renal toxicity and improves the weight gain in these children.

Key Words: Glutamine, intestinal permeability, malnutrition, diarrhea, oral rehydration solution.

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

1.1 Epitélio Intestinal

1.1.1 Função e Dinâmica da Barreira Intestinal

Uma das principais funções da barreira intestinal é a de separar o ambiente interno do organismo dos elementos nocivos que chegam à luz intestinal. A membrana apical do epitélio intestinal (borda em escova), constitui a interface inicial entre o meio ambiente e o meio interno dos vertebrados, servindo como passo inicial no metabolismo de nutrientes orgânicos (STEVENS e cols., 1982). Todos os fatores de defesa servem para diminuir a oportunidade dos agentes agressores ou macromoléculas nocivas de se deslocar através da barreira intestinal. Estes mecanismos incluem a motilidade intestinal, as junções firmes entre os enterócitos e a rápida migração destes através das criptas para o ápice das vilosidades.

Apesar da contínua exposição da sua superfície luminal ao ambiente microbiano hostil, o trato intestinal mantém essa barreira efetiva à entrada de microorganismos e toxinas. A defesa do trato gastrointestinal contra essa translocação envolve dois componentes básicos. O primeiro é uma barreira química e mecânica a qual inclui o pH ácido do estômago, as junções firmes epiteliais e a camada de muco a qual recobre o epitélio. O segundo componente é o tecido linfóide intestinal, o qual gera a secreção de antígenos específicos IgA no intestino (SOUBA e cols., 1990).

Podemos afirmar que a disfunção intestinal desempenha um importante papel nos eventos que acompanham doenças em estado crítico. Durante o período pós-natal, o trato gastrointestinal sofre um enorme crescimento o qual está associado com sua função de maturação. Cerca de 90% do epitélio intestinal

é composto por enterócitos os quais quando maduros são caracterizados pela presença de uma borda em escova na sua superfície apical (SUNG-EUN KONG e cols., 1998). Esse epitélio consiste de uma variedade de tipos celulares que se mantêm juntas por extensas junções intercelulares, formando uma espécie de folha envolvida por criptas e vilosidades. As criptas contêm uma população de "stem cells", provavelmente células colunares, capazes de gerar todos os tipos de células (BJERKNES & CHENG, 1999). Estas "stem cells" dão origem a quatro tipos de células: os enterócitos, células caliciformes, células enteroendócrinas e as células de Paneth (GORDON, 1989). A proliferação destas "stem cells" origina as células na base da cripta e à medida que essas células amadurecem elas migram para o ápice da cripta e começam a ascender nas vilosidades. Ao alcançarem a metade da região das vilosidades se diferenciam completamente em células absorptivas produzindo as enzimas da borda em escova (SUNG EUN KONG e cols., 1998).

Anteriormente se acreditava que os enterócitos apenas se desprendiam do topo das vilosidades na luz intestinal após alguns dias de sua migração. Trabalhos recentes sugerem que o enterócito sofre um processo de apoptose, é englobado e depois rapidamente transportado por células epiteliais adjacentes e macrófagos sub-epiteliais (SUNG EUN KONG e cols., 1998).

Esse dinâmico processo de "turnover" celular das células do intestino delgado e cólon é considerado uma função da taxa de proliferação das células das criptas, migração destas até o ápice das vilosidades e a morte celular via apoptose. Embora poucos dados estejam disponíveis em humanos, em modelos animais a mucosa e a sub-mucosa rapidamente atrofiam dentro de 24 horas de jejum. Desnutrição protéico-calórica, depleção severa de proteínas ou deficiências específicas de nutrientes (por exemplo, zinco, vitamina B12, vitamina A) dificultam a regeneração da mucosa intestinal e o seu reparo após agressão (ZIEGLER e cols., 1999).

Podemos definir apoptose como uma complexa contorção da membrana celular e das organelas celulares, enquanto é ativado um programa suicida intrínseco o qual sistematicamente destrói essa célula. A apoptose desempenha um importante papel no "turnover" de tecidos de rápida divisão, tipo vilosidades intestinais e linfócitos. Uma diminuição na taxa de apoptose pode levar a conseqüências patológicas, podendo favorecer o crescimento de tumores (KINLOCH e cols., 1999).

A apoptose é um mecanismo biológico regulador necessário para a remoção das células em excesso, as que são mutantes ou aquelas moderadamente danificadas. É considerado o mais importante mecanismo de morte celular do organismo em resposta a agentes tóxicos, do tipo irradiação. O zinco pode regular esse processo de morte celular programada já que a sua deficiência, na desnutrição, por exemplo, aumenta a freqüência de células apoptóticas em alguns tecidos e órgãos, incluindo o tecido intestinal, a pele e os linfócitos do timo (TRUONG-TRAN e cols., 2000).

Em circunstâncias normais, o estado nutricional é mantido principalmente através da absorção de nutrientes no intestino delgado provenientes da dieta. Em condições patológicas, tais como doença celíaca, doença de Crohn, linfangiectasia intestinal e as doenças diarréicas a alteração no balanço entre a fisiologia do intestino delgado e o estado nutricional é bem documentada (Apud LIMA, 1998).

1.1.2 Permeabilidade intestinal

Podemos considerar duas propriedades importantes do epitélio intestinal: uma de barreira de proteção contra diversos agentes presentes no lúmen e a propriedade funcional de transporte de moléculas. A permeabilidade intestinal refere-se à barreira funcional e a permeação de marcadores é geralmente utilizada para medir esta permeabilidade (MENZIES, 1983; TRAVIS & MENZIES, 1992). Dessa maneira podemos definir permeabilidade como um fluxo de solutos através de uma unidade de área de membrana num certo tempo. Essa permeação depende essencialmente do relacionamento estreito da substância em questão com os constituintes da membrana a ser cruzada. Assim a permeação depende do tamanho molecular da substância de que se trata, em relação aos poros hidrofílicos da membrana. Em um contexto clínico terapêutico, a permeabilidade intestinal normalmente é aplicada para permeação de moléculas com massa maior que 150 Daltons, ao invés de íons como sódio ou cloreto, para os quais a expressão permeabilidade de membrana é normalmente aplicada (LIMA, 1998).

Os íons se movem entre a luz intestinal e a corrente sanguínea através das vias transcelular, paracelular e por outros processos. O movimento passivo do sódio, tanto para dentro como para fora do lúmen, é bem acentuado através dos espaços laterais. Esse movimento é regulado pelas junções firmes (tight junctions) ou zônulas de oclusão (ZO). Essas ZO são cerca de duas vezes mais permeáveis ao sódio e ao potássio do que ao cloro (JOHNSON, 1997).

O sódio é absorvido da luz intestinal através da membrana apical das células epiteliais por quatro mecanismos, os quais incluem, o movimento de sódio por difusão restrita através de canais aquosos, o cotransporte de sódio com solutos orgânicos (por exemplo, glicose e aminoácidos), o cotransporte de sódio com o cloro e o seu transporte em troca por hidrogênio.

Desnutrição e estados críticos de doença podem levar à atrofia da mucosa intestinal, com conseqüente comprometimento da função digestivo-absortiva. Estados de privação alimentar causam diminuição da imunidade sistêmica e intestinal, demonstrada pelo aumento na translocação bacteriana e na permeabilidade intestinal. O epitélio que recobre o intestino seletivamente impede a passagem de moléculas hidrossolúveis. Quando medimos a passagem de moléculas tipo manitol, lactulose, dextran, e polietileno glicol, podemos demonstrar mudanças na permeabilidade intestinal. Na ausência de lesão no epitélio intestinal, podemos afirmar que as mudanças na permeabilidade intestinal refletem alterações no complexo de junção paracelular, um portão que abre e fecha em resposta a uma variedade de fatores (SUNG-EUN KONG e cols., 1998). Existem duas vias de permeação no epitélio intestinal normal: através da célula (transcelular) e entre as células (paracelular). (Figura 1).

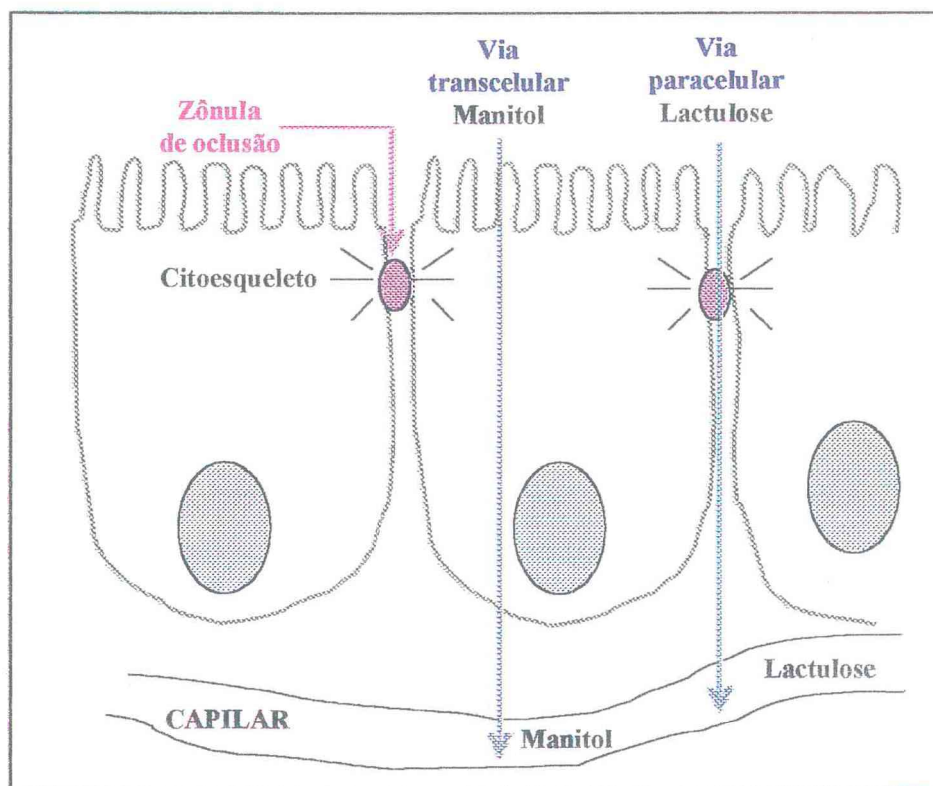


Figura 1 – Epitélio intestinal mostrando a via paracelular e transcelular (LIMA, 1998).

A via paracelular constitui as zônulas de oclusão, o espaço intercelular, as zonas de extrusões resultantes da morte de células e áreas de ulcerações. Existem várias razões para se acreditar que esta via é normalmente utilizada por moléculas de massa superiores a 180 Da tais como lactulose, celobiose, EDTA, rafinose ou dextran. As zônulas de oclusão (ZO) são estruturas que circundam as células epiteliais na porção apical, conectando uma célula à outra, mantendo assim, a polaridade apical e basolateral da membrana celular (CEREIJIDO e cols., 1988). As ZOs são formadas por fibras protéicas as quais estão conectadas com o citoesqueleto das células adjacentes (STEVENSON e cols., 1986; MADARA, 1987; CITI e cols, 1988).

Os espaços intercelulares são relativamente estreitos e tortuosos, os quais podem dificultar a passagem de solutos maiores. Por outro lado, é possível que moléculas maiores passem através da extrusão de células ou ulcerações do epitélio intestinal (CLARKSON, 1967; MOORE e cols., 1989).

A via transcelular envolve a passagem de solutos através da membrana celular. Monossacarídeos, como ramnose e moléculas pequenas de Polietilenoglicol (PEG), são capazes de penetrar no eritrócito, e podem passar através da membrana do enterócito (TRAVIS & MENZIES, 1992). Estudos realizados por NAFTALIN & TRIPATHI, 1985, sugerem a presença de poros pequenos eletroneutros (0,4 nm), na membrana do enterócito do íleo de coelho, os quais permitem a passagem de solutos como manitol, ramnose e PEGs de baixo peso molecular. A natureza desses poros é ainda desconhecida, mas supõe-se que esses poros sejam formados por moléculas de proteínas inseridas na membrana, como os canais aquosos (VERKMAN, 1989). Além desses poros, existem pelo menos outros três mecanismos pelos quais moléculas podem passar através das membranas celulares. Primeiro alguns solutos apresentam determinado grau de solubilidade lipídica, os quais podem passar por difusão na membrana. Moléculas de PEGs de baixo peso, como o PEG-400, apresentam

essa característica, permitindo assim, sua passagem utilizando esse mecanismo; segundo, a lesão mecânica ou abrasão da membrana celular pode permitir a passagem de substâncias através do epitélio (McNEIL & ITO, 1989); terceiro através da transcitose, é possível a passagem de proteínas e antígenos, de uma maneira rápida e eficiente, através do epitélio intestinal (SCHAERER e cols., 1991).

1.1.3 Testes de permeabilidade intestinal

O uso de testes não invasivos para determinar a permeabilidade intestinal vem de observações em pacientes com doença celíaca. Nestes pacientes, postulava-se que havia alterações na permeabilidade intestinal, porque eles apresentam dissacaridúria (GRYBOSKI e cols., 1963; WESER & SLEISENGER, 1965). Na época existia um grande interesse no estudo do modo como o intestino absorvia proteínas tóxicas e antigênicas (WALKER & ISSELBACHER, 1974). Assim, no início da década de 1970, foram utilizados vários marcadores como dextran marcado com fluoresceína isolada ou em combinação com lactulose (342 Da), rafinose (504 Da) e estachiose (666 Da) para testes não invasivos de permeabilidade intestinal (WHEELER e cols., 1978). No final da década de 1970, foram introduzidos testes diferenciais usando a combinação de dissacarídeos / monossacarídeos, tais como celobiose/manitol (COBDEN e cols., 1978) e lactulose/L-ramnose (MENZIES e cols., 1979). Já os testes de permeabilidade utilizando polietilenos glicóis (CHADWICK e cols., 1977) e ⁵¹Cr-EDTA (ácido etilenodiaminotetracético) (BJARNASON e cols., 1983) são introduzidos no final da década de 1970 e início de 1980.

Esses testes têm sido empregados no estudo e na quantificação da permeabilidade intestinal, baseando-se na ingestão das moléculas de prova,

seguida da determinação das suas concentrações na urina emitida após a administração (SAWAMURA e cols., 1997).

Estudos realizados em crianças têm permitido caracterizar anormalidade da permeabilidade intestinal em várias afecções, como na doença celíaca, na doença de Crohn, em doenças gastrintestinais alérgicas, na diarreia aguda e na diarreia persistente. Os testes de permeabilidade intestinal têm se mostrado úteis como procedimentos de "screening" não invasivos, antecipando ou mesmo substituindo testes mais invasivos na investigação da integridade da mucosa do intestino delgado, na avaliação de resposta a tratamento e de efeitos de drogas e toxinas sobre o intestino delgado (SAWAMURA e cols., 1997).

Medidas da excreção urinária de alguns açúcares não metabolizados administrados oralmente se constitui num excelente teste não invasivo de avaliação de área de superfície intestinal, permeabilidade paracelular e transcelular e integridade da função de barreira da mucosa (BARBOSA e cols., 1999). Estudo recente demonstrou uma deterioração na barreira da mucosa intestinal em pacientes portadores da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA), através da realização do teste de Lactulose/Manitol (L/M) em 40 pacientes infectados com o vírus HIV (LIMA e cols., 1997).

Um indicador largamente usado para se verificar lesão de mucosa e de área de superfície é representado pela taxa de recuperação urinária do dissacarídeo lactulose sobre o monossacarídeo manitol após ingestão de quantidades pré-estabelecidas dos mesmos. É extremamente claro que a medida de permeabilidade intestinal baseada na quantidade de absorção de dois açúcares de diferentes tamanhos promove mais informações e demonstra maior sensibilidade em desordens gastrointestinais do que estudos os quais utilizam um único açúcar para o teste. Lactulose e Manitol são os açúcares preferidos devido suas propriedades e suas características hidrofílica e lipofóbica. Ambas apresentam pouca afinidade para o sistema de transporte de glicosídeos na

mucosa intestinal, sendo, porém passivamente absorvidos tendo a vantagem de não serem metabolizados (BARBOZA e cols., 1999).

Tem sido preconizado que o manitol se difunde através de pequenos poros na membrana celular dos enterócitos, demonstrando transporte transcelular da área de superfície basal, enquanto que a lactulose atravessa a superfície mucosa através dos canais intercelulares entre as junções firmes, refletindo uma quebra na permeabilidade paracelular (BAO e cols, 1996). Conseqüentemente, a perda da integridade da mucosa deverá causar um aumento na absorção de lactulose, enquanto a diminuição da área absorptiva diminui a absorção de manitol (BARBOZA e cols.,1999).

1.2 Desnutrição protéico-calórica

A desnutrição continua sendo uma das causas de morbidade e mortalidade mais comuns entre crianças de todo o mundo. Aproximadamente 9% das crianças menores de cinco anos de idade sofrem de emagrecimento (peso para a altura abaixo de -2DP (<-2DP) dos valores de referência do National Centre for Health Statistics (NCHS)/OMS) e estão em risco de morte ou de grave depreciação do seu crescimento e do seu desenvolvimento psicológico (OMS, 2000).

Podemos destacar a nutrição como um dos mais importantes fatores ambientais capazes de influenciar o crescimento. Nas famílias de baixa renda os recursos utilizados para a alimentação são muito deficientes, e a maior parte das crianças brasileiras especialmente as nordestinas recebem uma dieta inadequada o que determina vários graus de prejuízo no crescimento e desenvolvimento, especialmente nos dois primeiros anos de vida. (COUTINHO e cols., 1988).

No período de 1987 a 1992 foi realizado, nos estados da região Nordeste, um diagnóstico de saúde e nutrição das crianças, revelando que, quanto ao

peso/idade, 9,2% das crianças estão abaixo de -2 escores z, sendo 1,6% de casos graves e 7,6% de casos moderados. Quanto ao indicador estatura/idade, este déficit é bem maior, totalizando 19,2% das crianças abaixo de -2 escores z, sendo 6,8% considerado como déficit grave e 12,4% como moderado (SCHMITZ e cols., 1998).

A desnutrição é o resultado final da privação nutricional e, freqüentemente, emocional por parte daqueles que cuidam da criança os quais, devido à falta de entendimento, pobreza ou problemas familiares, são incapazes de prover a nutrição e o cuidado que a criança requer. (OMS, 2000).

Segundo GOLDEN, 1996, a falência no crescimento e a redução na atividade física são as respostas principais de uma criança a uma ingesta calórica inadequada. Uma criança desnutrida sem edema (Marasmo) possui uma quantidade maior de água total no seu organismo em relação à percentagem do seu peso, já as crianças com desnutrição acompanhada de edema (Kwashiokor) têm uma maior proporção de sua água corporal como fluido extracelular. (Figura 2).



Figura 2 - Crianças com desnutrição protéico-calórica, atendidas na Unidade de Recuperação Nutricional do Hospital Infantil Albert Sabin. À esquerda temos uma criança de 18 meses com Kwashiorkor e à direita uma criança de 28 meses com Doença Celíaca.

A maioria das vísceras em crianças desnutridas, por exemplo, coração, cérebro, rins e o trato gastrintestinal, estão reduzidos em tamanho, mas o fígado permanece aumentado às custas de gordura. Crianças com Kwashiorkor têm consideravelmente mais gordura no seu fígado que as crianças com marasmo. A síntese protéica no fígado se torna reduzida com conseqüente diminuição de lipoproteínas levando ao acúmulo de triglicerídeos hepáticos.

Normalmente, cerca de um terço das necessidades basais de energia são consumidas pela bomba de sódio, sendo que nas crianças desnutridas há uma diminuição no funcionamento dessa bomba, levando a um aumento do sódio intracelular com uma conseqüente diminuição do potássio no interior das células, cujo excesso não podendo permanecer no meio extracelular, é excretado pelos rins. Essa baixa atividade da bomba de sódio também leva a uma diminuição no potencial elétrico reduzindo dessa forma a função neuromuscular levando a uma rápida fadiga muscular. Outros processos que

dependem do gradiente de sódio, tipo transporte de aminoácidos e glicose, têm suas capacidades reduzidas na desnutrição (GOLDEN, 1996).

Digestão e absorção de proteínas, gorduras e carboidratos estão geralmente diminuídas na desnutrição. A acidez gástrica, e os níveis enzimáticos intestinais e pancreáticos se tornam baixos. A motilidade de todo o intestino está reduzida de forma que o tempo de trânsito no intestino delgado torna-se aumentado, ocorrendo sobrecrecimento bacteriano e desconjugação de sais biliares. As enzimas celulares e o sistema de transporte de absorção de nutrientes estão comprometidos e a mucosa torna-se achatada, onde figuras de mitose e as criptas se tornam raras (GOLDEN, 1996).

Em um estudo realizado na Malásia (BREWSTER e cols., 1997), o Kwashiokor foi considerado a forma mais comum de desnutrição, sendo responsável por 75% de todas as admissões nos centros de reabilitação de desnutridos e por grande parte da mortalidade dessa região. Um importante fator que contribui para uma pobre resposta ao tratamento na criança com Kwashiokor é o acentuado grau de lesão intestinal, o qual requer o uso de dietas especiais para sua recuperação.

O potencial de crescimento de um indivíduo é geneticamente determinado, sendo que cada indivíduo deverá seguir uma curva de crescimento predeterminada se suas condições forem favoráveis. O retardo no crescimento pode se instalar de diversas formas, sendo que nos países em desenvolvimento se deve em grande parte ao resultado da desnutrição, com conseqüente quadro de má-absorção e infecções (ASHWORTH, 1986).

Amostras representativas de uma população refletem os padrões alimentares da mesma no momento da amostragem. A melhor maneira de se caracterizar o estado nutricional de uma criança é através da obtenção de medidas antropométricas básicas, ou seja, o peso e a altura. O erro usual de

medida é aproximadamente 240 g para o peso e 0,6 cm para a altura (PELLETIER e cols., 1995).

O mais sensível indicador de desnutrição na infância é a falência em alcançar o crescimento normal. Dos muitos sistemas de classificação propostos, três têm obtido aceitação e em cada um desses o tamanho da criança é comparado com uma referência normal. A recomendada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) é o padrão de referência do National Centre for Health Statistics (NCHS) para a idade de 0 a 10 anos:

1- Classificação de Gómez, a qual caracteriza a criança de acordo com o seu peso relativo à criança normal da mesma idade, expressada em porcentagem. Essa classificação é preconizada para crianças menores de dois anos. Nessa faixa etária, o peso é o parâmetro que tem maior velocidade de crescimento, variando mais em função da idade do que do comprimento da criança. Baseia-se no índice de peso para a idade e sexo (P/I).

$$P/I = \frac{\text{Peso observado}}{\text{Peso esperado para idade e sexo (p50)}} \times 100$$

(p50) – percentil 50 do padrão de referência (NCHS)

2- Classificação de Waterlow a qual baseia-se nos índices de altura/idade (A/I) e peso/altura (P/A). É utilizada em crianças de 2 a 10 anos de idade. Nessa fase o crescimento é mais lento e constante, predominando o estatural, fazendo com que o peso da criança varie mais em função de sua estatura do que da idade. Dessa maneira os agravos nutricionais serão mais bem avaliados pela relação A/I, seguida de P/A:

- Eutrofia: A/I superior a 95% e P/A superior a 90% do p50.
- Desnutrido atual ou agudo (“wasting”): A/I superior a 95% e P/A inferior a 90% do p50.

- Desnutrido crônico (“wasting and stunting”): A/I inferior a 95% e P/A inferior a 90% do p50.
- Desnutrido pregresso (“stunting”): A/I inferior a 95% e P/A superior a 90% do p50.

A antropometria é, em termos práticos, suficiente para a avaliação do estado nutricional infantil em inquéritos epidemiológicos e em abordagens individuais. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), através da idade e pela aferição do peso e da altura da criança pode-se calcular os três índices antropométricos mais freqüentemente utilizados: peso/idade, altura/idade e peso/altura (MONTE, 2000). Os pontos de corte para a classificação do estado nutricional são: a) desnutrição grave se menor que -3 DP; b) moderada entre -2 e -3 DP; e c) leve entre -1 e -2 DP.

Quando necessitamos comparar um conjunto de medidas antropométricas com um padrão de referência podem ser empregadas várias escalas, e as de uso mais comum são o percentil e o escore Z (desvio padrão escore). O uso preferencial do escore Z deve-se ao fato de que discrimina melhor os casos extremos. O escore Z, que em termos práticos varia de -6 a $+6$, significa quantos desvios padrão o dado obtido está afastado de sua mediana de referência.

Entre os critérios de avaliação nutricional antropométrica existem aqueles que apresentam maior sensibilidade (captam os casos mais leves) e, conseqüentemente, especificidade baixa (diagnosticam muitos casos falsos positivos): é o caso do percentil 10 (escore Z de $-1,28$) como limiar entre a eutrofia e a desnutrição. Por outro lado, existem aqueles com sensibilidade baixa, porém, com boa especificidade, empregados quando se deseja identificar apenas os casos mais acometidos: é o caso do limiar no escore Z em -2 , que corresponde ao percentil 2,3, e que é o limiar mais freqüentemente utilizado (GOULART, 1997).

Por definição, para qualquer dos indicadores, o escore Z médio da população de referência é zero. Escore Z negativo indica que a criança e/ou a população estudada está abaixo do padrão de estado nutricional desejável (MONTE, 2000).

O valor exato do escore Z de cada indivíduo pode ser obtido através do padrão de referência do National Centre for Health Statistics (NCHS) que é recomendado pela Organização Mundial de saúde (OMS) para a idade de 0 a 10 anos. Esse padrão de referência foi obtido através do estudo de populações eutróficas norte-americanas e serve como um guia geral para “screening” e monitoramento do crescimento das crianças (PELLETIER, 1995).

Um déficit no índice altura/idade indica que a criança tem um crescimento comprometido em um processo de longa duração, e é utilizado o termo inglês "stunting" (que poderia ser traduzido como nanismo) para diagnosticar essa situação. Um déficit no índice peso/altura, ou seja, um peso proporcionalmente abaixo do esperado para a altura encontrada na criança, indica um comprometimento recente do crescimento que interferiu no ganho de peso, mas ainda não acometeu a estatura. Foi criado o termo "wasting" (“emaciamento” como tradução mais próxima) para caracterizar essa situação. O índice peso/idade fornece menos informação: seu déficit pode significar tanto um fenômeno recente como antigo. Foi criado o termo "underweight" (baixo peso) para diagnosticar esses casos (GOULART, 1997).

Não existe mais dúvida de que curvas de crescimento construídas a partir de crianças de países desenvolvidos podem ser usadas para comparar o crescimento de crianças de países pobres (WHO - Working group, 1986). Está amplamente demonstrado que o potencial genético tem influência menor que os fatores ambientais na determinação do déficit de crescimento das crianças do terceiro mundo (GOULART, 1997). Amostra representativa de uma população reflete os padrões alimentares no momento da amostragem. Se os padrões

alimentares afetam os padrões de crescimento, então os padrões de crescimento dessa referida população podem mudar à medida que esses padrões alimentares mudem(WHO, 1995).

1.3 Doença diarréica

A doença diarréica é considerada um importante problema de saúde pública, principalmente nas crianças menores de cinco anos dos países em desenvolvimento (CLAESON & MERSON, 1990).

Diarréia é definida como a passagem de três ou mais evacuações líquidas dentro de 24 horas. Um episódio diarréico é definido como aquele que começa nas primeiras 24 horas e termina com o último dia de diarréia, seguido de pelo menos dois dias consecutivos de eliminação de fezes normais (LIMA & GUERRANT., 1992).

Em 1987, a Organização Mundial de Saúde (OMS) definiu diarréia persistente como um episódio diarréico de causa presumivelmente infecciosa que se inicia como um episódio agudo, acarretando um agravo no estado nutricional e com duração superior a 14 dias (ANDRADE e cols., 2000). Esses termos não incluem diarréia crônica (episodes com duração maior que trinta dias), onde estão incluídas as doenças de Crohn, doença celíaca e outras (LIMA e cols.,1992).

Com o advento da terapia de reidratação oral levando a uma redução da mortalidade e morbidade da diarréia aguda, a diarréia persistente tem se tornado um problema de maior amplitude, com um alto índice de mortalidade em crianças menores de cinco anos em muitos países em desenvolvimento (FANG e cols., 1995). No nordeste do Brasil a diarréia persistente é responsável por 3 a 11% de toda a doença diarréica que persiste além de 14 dias, levando a um alto risco de mortalidade infantil (FANG e cols., 1995).

Para crianças menores de cinco anos de idade, a incidência média global estimada de diarreia varia de 2,2 a 3,0 episódios por criança por ano. Em algumas regiões menos desenvolvidas, como no Peru, Guatemala, Bangladesh e nordeste do Brasil a incidência de diarreia é considerada mais alta, com uma média de 3 a 11 episódios por criança por ano (LIMA & GUERRANT, 1992).

SCHORLING e cols., 1990, num estudo coorte de 175 crianças menores de cinco anos de idade num período de 28 meses, em uma favela no nordeste do Brasil, encontraram uma média de 11,4 episódios por crianças por ano e uma média de 82 dias por ano com doença diarreica.

Num estudo longitudinal realizado em 677 crianças peruanas menores de três anos de idade, durante 27 meses numa comunidade pobre próximo a Lima no Peru, foram identificados 5.302 episódios de diarreia, numa incidência média de 8,1 episódios por criança por ano. A maioria dos episódios de diarreia (88 %) foram de curta duração, tendo somente 3,2 % desses episódios persistido por mais de 14 dias e 1 % por mais de 21 dias (LANATA e cols., 1991).

Assim como a desnutrição protéico calórica, a diarreia persistente é responsável por elevadas taxas de morbidade e mortalidade em crianças de baixo nível sócio-econômico em países em desenvolvimento, podendo ser apontada como causa e efeito da desnutrição aumentando o risco de morte quando associada a esta (LIMA & GUERRANT, 1992). Embora a incidência de diarreia aguda na infância seja inicialmente determinada pela intensidade da exposição aos patógenos ambientais, os fatores do hospedeiro exercem uma importante função na gravidade e duração da doença. A desnutrição, associada às múltiplas deficiências de micronutrientes, é sem dúvida o mais importante fator de risco para o desenvolvimento de diarreia persistente e suas complicações. Deficiências de alguns micronutrientes têm aumentado a susceptibilidade às infecções, exercendo efeitos adversos nas funções e estrutura do trato gastrointestinal (BHAN & BHANDARI, 1998).

A maior incidência e o aumento da duração do episódio diarreico foram comprovadamente duas vezes maiores nas crianças desnutridas quando comparadas às crianças de bom estado nutricional (SCHORLING e cols., 1990 e GUERRANT e cols., 1992).

Na vigência de um processo diarreico, ocorre agressão à mucosa e à borda estriada dos enterócitos, alterando sua morfologia, podendo determinar deficiência de dissacaridases e ruptura da barreira de permeabilidade intestinal, possibilitando maior absorção de proteínas heterólogas. Esses antígenos determinariam a sensibilização da mucosa intestinal que, frente a uma nova carga antigênica, responderia com reação de hipersensibilidade, perpetuando a lesão da mucosa intestinal. (SAWAMURA e cols., 1997). Desta forma o estado de barreira da mucosa pode influenciar no estado de persistência do processo diarreico.

Estudos realizados em microscopia de luz confirmam que pacientes com diarreia persistente apresentam anormalidades importantes na mucosa do intestino delgado. FAGUNDES NETO e cols., 1984, avaliando mucosa intestinal de pacientes com diarreia persistente, através de microscopia eletrônica de transmissão, demonstraram várias alterações estruturais, em especial o achatamento das microvilosidades, além de vacuolização de mitocôndrias e do retículo endoplasmático. Em microscopia eletrônica de varredura, foram demonstradas lesões intensas e inespecíficas, tais como, diminuição do número e tamanho das microvilosidades e desarranjo estrutural dos enterócitos (COSTA e cols., 1997).

A integridade do epitélio intestinal constitui o ponto crítico para a manutenção do estado de saúde. A diarreia persistente a qual está associada à síndrome de má absorção, se não controlada com manejo dietético adequado, levará à desnutrição acompanhada de suas nefastas conseqüências.

1.4 Glutamina

1.4.1 Histórico

Pouco se conhecia sobre a glutamina até 1930, quando Hans Krebs, em um trabalho histórico, descreveu pela primeira vez a capacidade de hidrólise e síntese de glutamina em tecidos de mamíferos (APUD LIMA, 1998). A partir daí, evidenciou-se que a glutamina é ativamente transportada e metabolizada em quase todos os tecidos, sendo considerado um aminoácido não essencial, já que era sintetizada de novo no organismo. Os conhecimentos da síntese e dos passos de degradação da glutamina aumentaram significativamente nos vinte anos seguintes, porém ainda havia pouco progresso no entendimento das funções metabólicas da glutamina (SMITH, 1990).

O conceito de que a glutamina poderia ter uma importante e única propriedade metabólica foi proveniente da observação de Harry Eagle nos anos cinquenta, verificando-se que a glutamina era um importante e essencial nutriente para as células que se replicavam em culturas. A observação de que células em cultura necessitavam de glutamina levou ao aparecimento de um grande número de trabalhos nos trinta e cinco anos seguintes, tendo-se demonstrado uma associação significativa entre a taxa de proliferação celular e o consumo de glutamina em muitos diferentes tipos de células. LINDERHORIZ e cols., 1969, estudaram o metabolismo da glutamina num grupo de hepatomas de ratos os quais mostravam diferenças no grau de diferenciação e taxa de crescimento. Foi encontrada uma relação inversa entre o tempo e a atividade da glutaminase dependente de fosfato, refletindo altas taxas de utilização de glutamina como precursor de nucleotídeos e outras moléculas.

Trabalhos realizados nas décadas de 1950 e 1960 tornaram claro que a função metabólica da glutamina não se limita a um precursor da síntese protéica,

mas que funciona como um importante mediador numa variedade de vias metabólicas em diversos tipos celulares.

Em todas as células existe um precursor que doa átomos de nitrogênio durante a síntese das purinas, pirimidinas e aminoácidos. No rim, a glutamina exerce um importante papel no balanço ácido-básico como o mais importante substrato para a amoniogênese renal. No fígado pode servir como um substrato gliconeogênico (SMITH, 1990).

Trabalhos realizados nos últimos vinte anos têm mostrado que não somente a glutamina está envolvida em múltiplas reações bioquímicas dentro das células, mas tem ainda um importante papel na fisiologia de tecidos específicos. A glutamina é o mais abundante aminoácido livre no plasma e no interior da célula. No músculo esquelético, o qual contém cerca da metade do total de aminoácidos livres no organismo, a glutamina sozinha é responsável por mais de 60% do pool de aminoácidos livres (SMITH, 1990).

1.4.2 Estrutura Química

A glutamina é um aminoácido neutro não essencial, cujo peso molecular é de 147.1 Da. Em pH fisiológico o grupo carboxil possui uma carga negativa enquanto o grupo amida é carregado positivamente (Figura 3) e é um dos três aminoácidos que contem um grupo amida na sua cadeia lateral, da mesma maneira que a histidina e a asparagina. Isso tem importância porque aminoácidos com estruturas semelhantes competem pelo mesmo carreador protéico para entrada nas células. Esse amido nitrogênio da glutamina constitui um requerimento necessário para a biossíntese dos ácidos nucléicos em todas as células. Praticamente todos os tecidos possuem a enzima glutamina sintetase necessária para a síntese da glutamina, porém diversos órgãos precisam extrair grandes quantidades de glutamina da circulação a fim de manter o metabolismo

e funções celulares. Apesar da ávida utilização da glutamina por um número de tecidos, este se constitui o mais abundante aminoácido do organismo. Possui a maior concentração no sangue (500-900 μM) de todos os aminoácidos e, com exceção da taurina, chega a mais de 60% de todo o aminoácido intracelular livre. (SOUBA e cols., 1990).

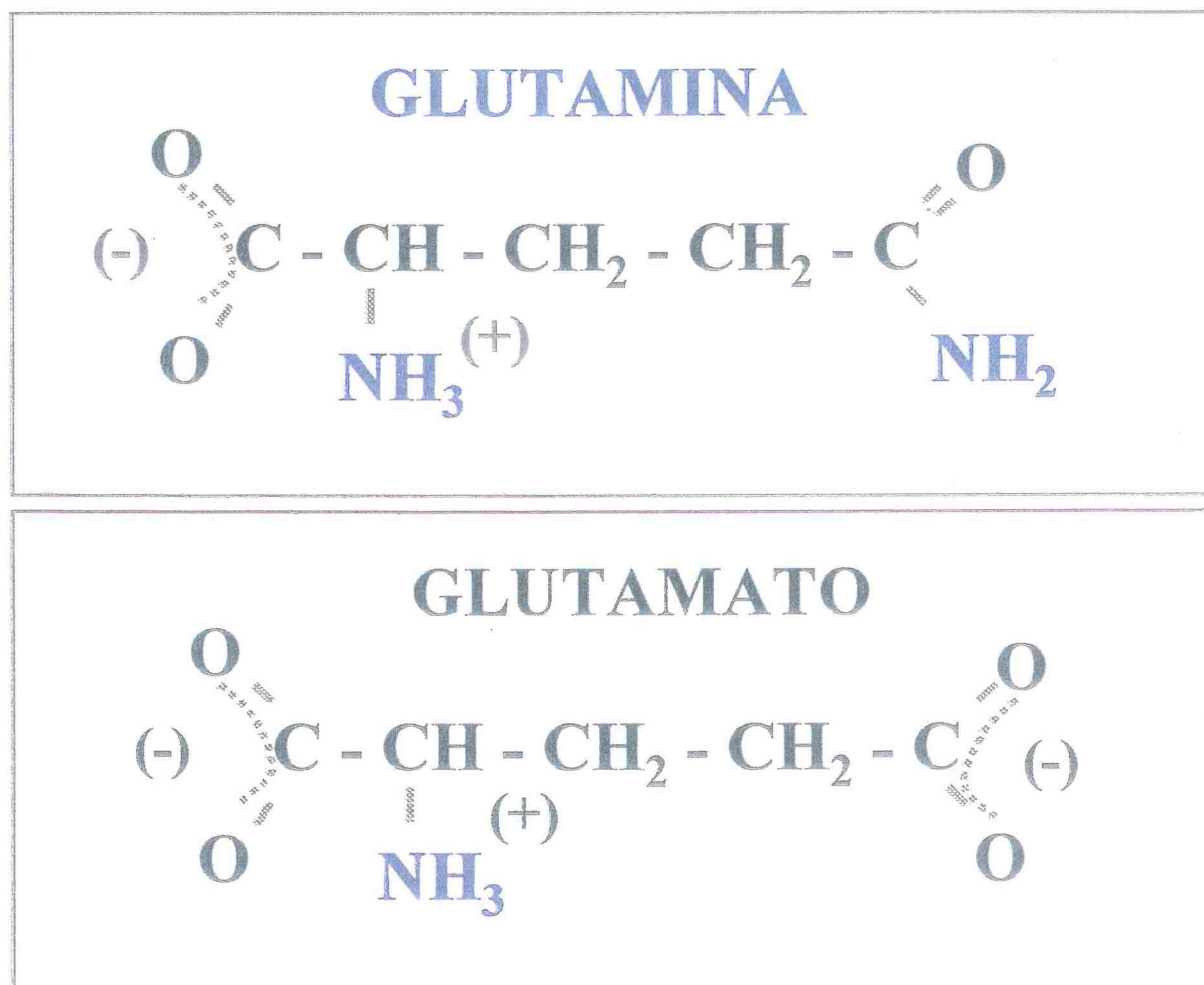


Figura 3 – Estrutura química da glutamina e glutamato. A glutamina é um aminoácido neutro e tem na sua estrutura dois grupos de nitrogênio. O catabolismo da glutamina pela glutaminase resulta na formação de glutamato e amônia (LIMA, 1998).

1.4.3 Fisiologia, Metabolismo e Bioquímica

A glutamina é o mais abundante aminoácido no sangue e no pool de aminoácidos livres no nosso organismo. Sua concentração no músculo esquelético, o principal órgão de síntese e estoque de glutamina, é trinta vezes maior do que a concentração circulante. A glutamina tem múltiplas funções, sendo que uma das mais importantes é a que serve de veículo para a transferência de nitrogênio entre os tecidos. Regula a síntese protéica, sendo considerado o mais importante substrato para a amoniogênese renal e um precursor essencial para a biossíntese de ácidos nucleicos em todas as células (SOUBA e cols., 1990)(Figura 4).

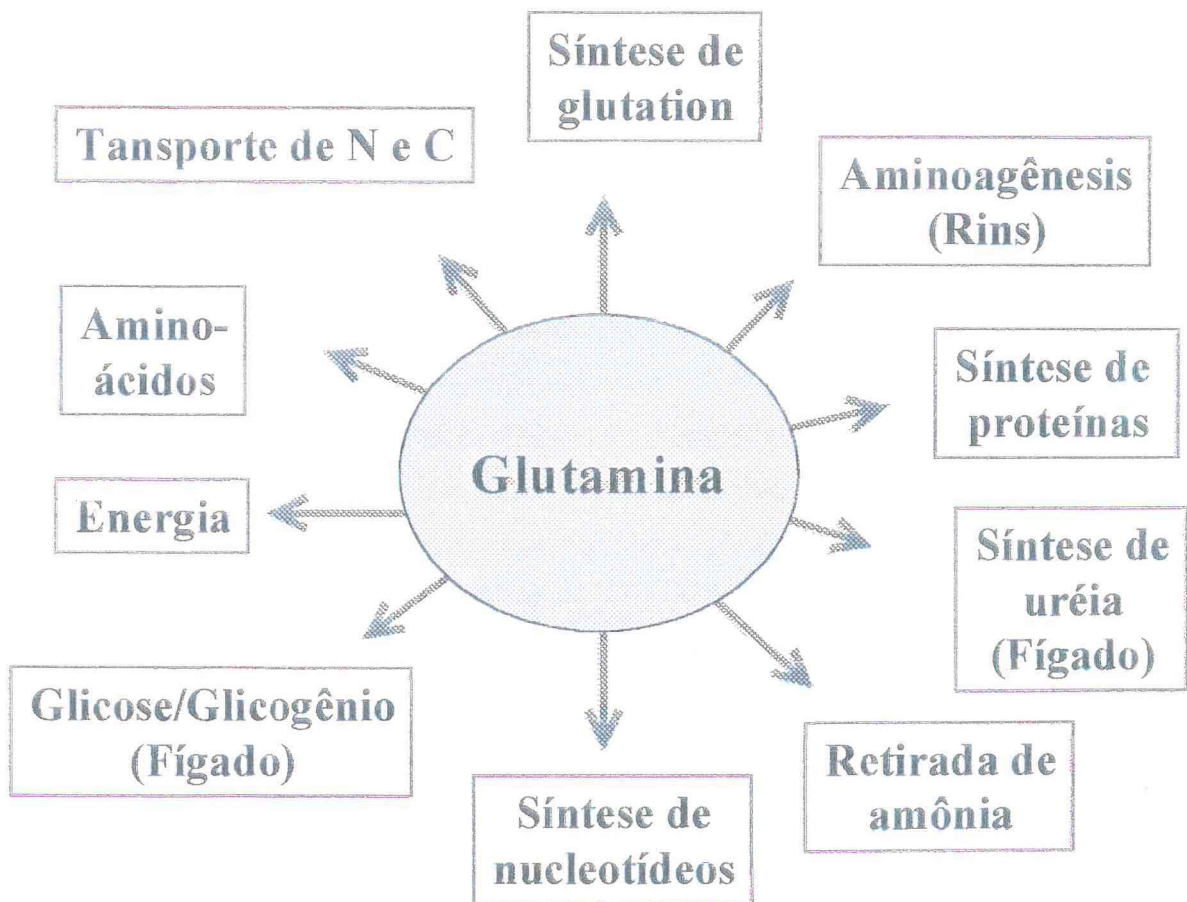


Figura 4 – A Glutamina participa de algumas importantes vias metabólicas do organismo (LIMA, 1998).

Existem duas enzimas que regulam a síntese e o catabolismo da glutamina (SOUBA e cols, 1985). A glutaminase cataliza a hidrólise de glutamina em glutamato e amônia, e a glutamina sintetase cataliza a síntese de novo de glutamina a partir de glutamato e amônia (Figura 5). Algumas células são consideradas consumidoras de glutamina e possuem concentrações relativamente altas de glutaminase, como: células da mucosa intestinal, linfócitos e células do túbulo renal. Outras células são produtoras de glutamina e, por conseguinte, possuem alta atividade de glutamina sintetase, como músculo esquelético, neurônios e algumas células pulmonares. O fígado constitui-se uma exceção, o qual pode produzir ou consumir glutamina, dependendo da necessidade de outros órgãos. Em células de mamíferos, a glutamina sintetase localiza-se no citoplasma, enquanto a glutaminase encontra-se dentro da mitocôndria (SOUBA e cols, 1985).

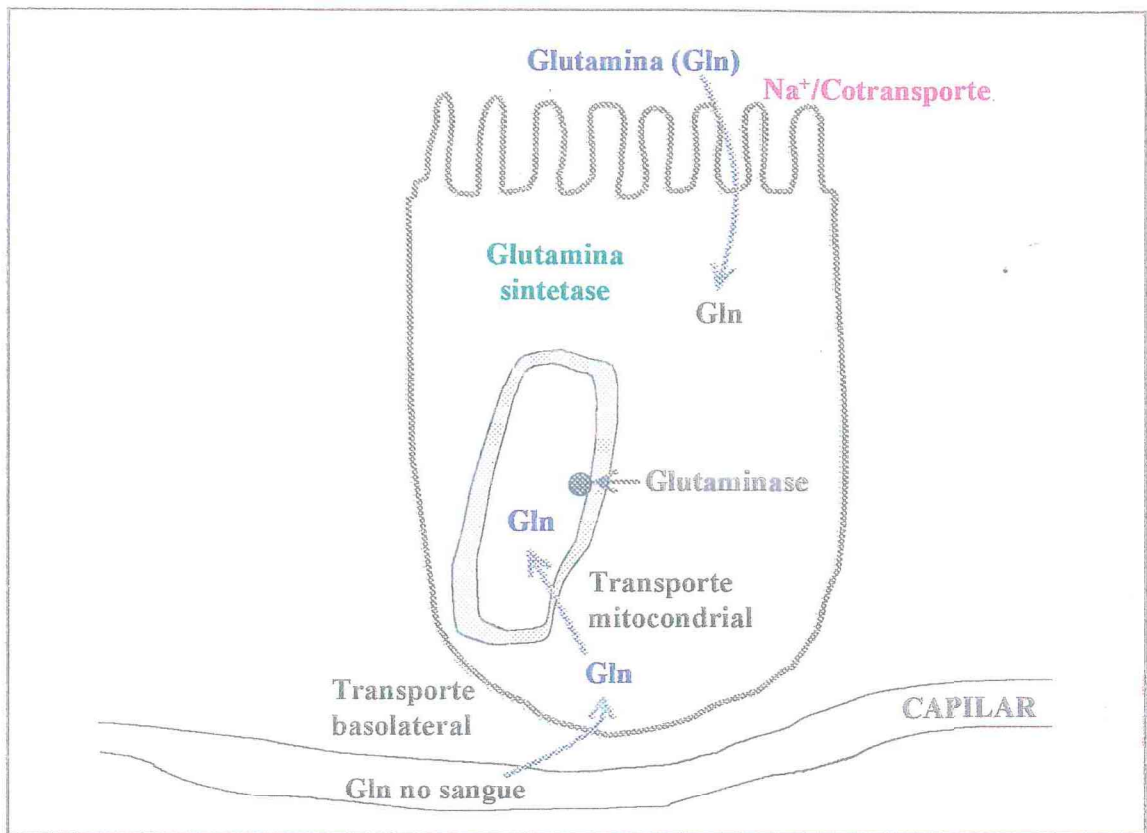


Figura 5 – Síntese e catabolismo da glutamina nas células do epitélio intestinal. A glutaminase cataliza a hidrólise de glutamina em glutamato e amônia, e a glutamina sintetase faz a síntese de novo de glutamina a partir de glutamato e amônia (LIMA, 1998).

No estado de metabolismo basal os músculos esqueléticos liberam quantidades regulares de glutamina, processo esse que se torna acelerado em estados catabólicos. Esse aminoácido é considerado um importante substrato para a mucosa intestinal e outras células de replicação, como as células endoteliais, células tubulares renais, linfócitos, células malignas e fibroblastos. Esta captação rápida de glutamina por essas células em divisão pode ter um significado importante em certos pacientes com distúrbios gastrintestinais, grandes ferimentos em cicatrização, doenças malignas avançadas, insuficiência

renal e infecção severa (SOUBA e cols, 1990). Em pacientes em estados críticos, o intestino pode funcionar como uma fonte de infecção, sendo esses pacientes vulneráveis à invasão de bactérias entéricas ou à absorção de suas toxinas. A translocação bacteriana pode estimular os macrófagos hepáticos e pulmonares a liberar Interleucina 1 (IL-1) e o fator de necrose tumoral (TNF). Esses mediadores bioquímicos ativam o eixo hipófise-supra-renal liberando cortisol o qual acelera a liberação de glutamina dos músculos e pulmões, aumentando a captação de glutamina pelo intestino assim como a amoniogênese renal. Se esse ciclo persiste, ou se o paciente se torna incapaz de ser alimentado oralmente, um estado catabólico prolongado se instala (SOUBA e cols., 1990).

Os hormônios glicocorticóides são considerados os reguladores-chave do metabolismo intestinal acelerado da glutamina que ocorre em estados críticos de stress. Estudos *in vivo* usando modelo de cachorros cateterizados cronicamente demonstraram que a administração de dexametasona acelera a captação intestinal de glutamina. Outros trabalhos demonstraram que a dexametasona aumenta a atividade específica da glutaminase mitocondrial no enterócito, provavelmente através do estímulo da síntese dessa enzima. Durante o tratamento com glicocorticóides o intestino muda de um órgão de captação de glicose para um de pequena liberação de glicose, uma adaptação que visa economizar glicose para a utilização por órgãos vitais altamente dependentes da mesma. Essa habilidade do intestino de poupar ou produzir glicose mostra a relação de cooperação metabólica entre o intestino e o fígado durante a rápida gliconeogênese que caracteriza os estados catabólicos. Ao mesmo tempo em que o intestino funciona como um economizador de glicose nos estados críticos, há um acelerado metabolismo da glutamina pelo mesmo, resultando no aumento da formação de alanina, a qual entra na etapa de gliconeogênese hepática, enquanto a amônia é convertida, em larga escala, em uréia contribuindo para o balanço

nitrogenado negativo que ocorre em estados críticos de doença (SOUBA e cols, 1990). (Figura 6).

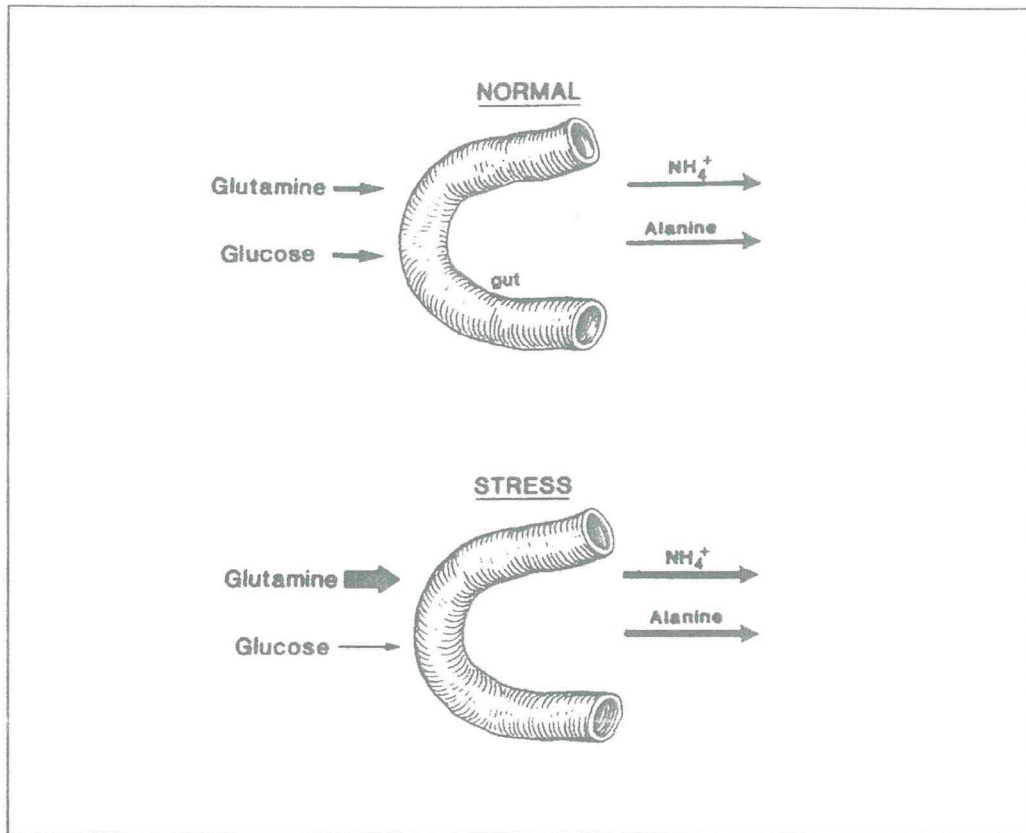


Figura 6 – Utilização da glutamina pelo intestino em estados normal e de stress (SOUBA e cols., 1990).

1.4.4 Metabolismo Intestinal da Glutamina

O intestino delgado é responsável pelo consumo de aproximadamente 40% do total de glutamina presente no rato experimental. A maior parte do consumo ocorre no epitélio intestinal, o qual exibe uma intensa atividade proliferativa e de renovação, previsível pela enorme quantidade e atividade de glutaminase (PINKUS & WINDMUELLER, 1977).

Existem atualmente evidências que a glutamina exerce um importante papel na manutenção do metabolismo intestinal, estrutura e função. FOX e cols., 1988, usando um modelo experimental de enterocolite induzida por metotrexate em ratos, demonstraram que a suplementação oral de glutamina na dieta dos mesmos prolongou a sobrevivência deles e diminuiu a severidade da inflamação da mucosa. GUZMAN e cols., 1989, demonstraram que com o modelo animal de enterite causada por irradiação abdominal em camundongos, a translocação bacteriana ocorria por volta de doze horas após a irradiação, momento esse em que a lesão ainda não era aparente, sugerindo que a suplementação de glutamina melhoraria não somente a mucosa lesada, assim como, diminuiria o índice de translocação bacteriana, permitindo que as defesas locais (linfócitos) fossem mais efetivas.

MOCHIZUKI e cols., 1984, investigaram o mecanismo de prevenção do hipermetabolismo pós-queimadura através de alimentação enteral precoce em porcos da Guiné os quais haviam sido submetidos a variados tipos de queimaduras. Os investigadores demonstraram que o início precoce da dieta enteral dentro de algumas horas pós-stress de queimadura preserva a integridade das vilosidades intestinais, diminuindo a secreção de cortisol pelas glândulas adrenais. Através desse estudo foi levantada a hipótese de que o uso de dietas enterais contendo glutamina fornece um adequado substrato para a mucosa do trato gastrintestinal e ainda elimina a necessidade de secreção excessiva de glicocorticóides, os quais no paciente em jejum, iriam mobilizar os estoques de glutamina dos músculos para suprir as necessidades energéticas intestinais.

JIANG e cols., 1999, demonstraram que o uso da Alanil-glutamina suplementando a nutrição parenteral em pacientes de pós-operatório de cirurgias gastrointestinais de grande porte, melhorou o balanço nitrogenado e foi importante na manutenção da permeabilidade intestinal desses pacientes quando

comparado com o grupo controle que não recebeu esse dipeptídeo no seu suporte parenteral.

1.4.5 Glutamina e Suplementação Nutricional

Existem circunstâncias nas quais o uso de dieta oral está contra-indicada e a nutrição parenteral total (NPT) é o método de suporte nutricional de escolha. Embora NPT tenha sido largamente usada em pacientes com uma variedade de doenças gastrintestinais, pouca atenção se dava aos requerimentos nutricionais específicos do próprio intestino. Soluções de NPT sem adição de glutamina, explica em parte, o desenvolvimento de atrofia vilositária em pacientes em alimentação parenteral prolongada. HWANG e cols., 1987 demonstraram que o suplemento de glutamina na solução de nutrição parenteral diminuiu a atrofia vilositária nesses pacientes. BURKE e cols., 1989, demonstraram que o uso da suplementação de glutamina em soluções de nutrição parenteral em camundongos protegeu contra a translocação bacteriana.

KLIMBERG e cols., 1990, demonstraram que o uso de glutamina em dietas de camundongos tratados com radiação abdominal levou a melhora da morfometria da mucosa intestinal dos mesmos, assim como diminuiu a morbidade e a mortalidade associadas com esse modelo animal de radiação. Estudos realizados em camundongos tratados com metotrexate intraperitoneal, os quais receberam uma dieta elementar enriquecida com glutamina, demonstraram que houve uma melhora significativa do estado nutricional desses camundongos quando comparado com o grupo controle que não fez uso dessa dieta, assim como diminuição da lesão intestinal, uma menor translocação bacteriana, resultando numa melhora da sobrevivência desses animais (FOX e cols., 1988). Dois grupos de camundongos foram escolhidos aleatoriamente para receberem nutrição parenteral total (NPT) suplementada com alanyl-glutamina

ou com uma mistura convencional de aminoácidos. No grupo que recebeu a solução com o dipeptídeo alanyl-glutamina houve prevenção da atrofia da mucosa e da deterioração da permeabilidade (HAQUE e cols., 1996).

NATH e cols., 1992, observaram que coelhos infectados com *Escherichia coli* enteropatogênica aumentaram a absorção intestinal de sódio quando tratados com solução contendo glutamina. Este e outros achados nos levam a postular que a glutamina possa ser útil na reidratação oral e na indução da cicatrização intestinal resultante de doenças diarréicas, podendo ainda ser benéfica em condições em que a mucosa intestinal e o seu balanço energético estão comprometidos, ou seja, no caso da desnutrição protéico calórica.

1.4.6 Transporte Intestinal de Glutamina

O passo inicial para a absorção e metabolismo de nutrientes é constituído pela membrana apical do enterócito intestinal. Os solutos absorvidos são automaticamente transportados dos enterócitos, via membrana basolateral, para o sangue portal. Existem maneiras diversas de transporte de aminoácidos e monossacarídeos na membrana apical que incluem difusão passiva simples e sistemas mediados por transportadores seletivos (STEVENS, 1990).

O maior papel do intestino delgado é o de manter o fluxo de aminoácidos do meio externo para dentro do organismo. Aminoácidos livres são transportados através das membranas pelos sistemas de transporte sódio-independente (transporte facilitado), ou sódio-dependente (transporte ativo secundário). Transportadores de aminoácidos no intestino delgado desempenham um importante papel no metabolismo nitrogenado de todo o corpo, durante ambos os estados absorptivo e pós-absorptivo. No estado absorptivo, as membranas apical e basolateral do enterócito transferem sódio e/ou aminoácidos da luz para o sangue portal (MAILLIARD e cols., 1995).

O transporte de glutamina do espaço extracelular para o espaço intracelular é mediado por um transportador, o qual se liga ao substrato através do sítio catalítico presente na proteína transportadora (CHRISTENSEN, 1990). Não se conhece um transportador específico para a glutamina, mas sistemas de transportadores que se ligam com a glutamina e aminoácidos estruturalmente relacionados. Cada sistema de proteína transportadora se liga com uma classe de aminoácidos, tais como: neutros, catiônicos, aromáticos e amidas.

RHOADS e cols., 1990, demonstraram o importante papel da glutamina no aumento do transporte de sódio no intestino delgado de porcos recém-nascidos. LIMA e cols., 1992, investigaram o cotransporte de cátion com glutamina, alanina e glicose em mucosa isolada de íleo de coelho e demonstraram que o cotransporte intestinal de cátion dependente de sódio foi maior com glutamina do que com alanina ou glicose.

A glutamina se liga ao sítio ativo da proteína transportadora que por sua vez apresenta vários domínios na membrana celular. Esses transportadores necessitam da presença de íons sódio para sua atividade, sendo dessa maneira o aminoácido transportado acoplado com o íon sódio para dentro da célula. A diferença de potencial, negativo no espaço intracelular, assim como o gradiente de sódio do espaço extracelular para o intracelular, facilitam a permeação da glutamina para o citoplasma celular. O sódio ligado com o transportador aumenta sua atividade para com a glutamina do lado externo da membrana, levando assim, à formação do complexo sódio/glutamina/transportador. A mudança estrutural desse complexo protéico resulta na entrada de sódio e glutamina no citoplasma (STEVENS & WRIGHT, 1987).

Existem diferentes sistemas de transportadores de glutamina dependentes de sódio encontrados em diversas membranas celulares (Tabela 1), porém os mesmos não são específicos para glutamina, podendo transportar vários aminoácidos. O transportador N é identificado somente na membrana do

hepatócito (KILBERG e cols.,1980). Esse transportador apresenta características diferentes de dois outros transportadores para aminoácidos dependentes de sódio, denominados sistemas A e ASC, encontrados em hepatócitos de ratos. No músculo esquelético encontramos o transportador N^m que é ativado por sódio ou lítio (AHMED e cols., 1990).

O sistema B, carreador de aa neutros, é encontrado somente no epitélio intestinal, e é sódio dependente. Esse sistema está presente em células do intestino de coelho (STEVENS e cols., 1982; STEVENS e cols., 1984), intestino humano (SAID e cols., 1989) e do epitélio intestinal como Caco-2 (SOUBA e cols., 1992).

Na modulação do transporte ou captação de glutamina pelas células tanto no estado normal como catabólico, os hormônios e citocinas exercem um importante papel. O sistema A de transporte é um dos mais sensíveis à modulação de hormônios como: glicocorticóides, glucagon e insulina (CHRISTENSEN, 1990). O sistema N, presente nos hepatócitos, responde à ação de hormônios como dexametasona, insulina e glucagon (GEBHARDT & KLEEMANN, 1987). Citocinas como interleucina-1 (IL-1) e fator de necrose tumoral estimulam o transporte de glutamina no endotélio pulmonar (HERSKOWITZ e cols., 1991).

Tabela 1 - Sistemas de transportes de glutamina acoplados com sódio em diferentes células

Células	Sistemas de transporte	Regulação
Hepatócitos	N e A	Insulina, glucagon, corticóides? IL-6•
Céls. Endoteliais	ASC	LPS, citocinas
Céls. Alveolares	A e ASC	-
Fibroblastos	A e ASC	TNF
Enterócitos	B	EGF, IFN- γ
Céls. Musculares	N ^m	Corticóides
Linfócitos	ASC	-

- Ainda não definido em literatura.

1.4.7 Toxicidade da Glutamina

Em solução a glutamina é hidrolisada num tempo relativamente curto, sendo porém, esse processo reduzido, quando se ajustam o pH da solução e a temperatura (STEHLE e cols., 1989).

Estudos têm falhado em demonstrar alguma toxicidade associada com a glutamina na suplementação de nutrição parenteral. Esses estudos foram feitos em cachorros (SOUBA e cols., 1985), voluntários humanos (LOWE e cols., 1989), e ratos (KLIMBERG e cols., 1989). ZIEGLER e cols., 1990, demonstraram que a L-glutamina é bem tolerada em humanos sadios quando administrada por via oral ou endovenosa em bolo ou em fórmulas nutricionais. Nenhuma evidência de toxicidade clínica ou geração de metabólitos tóxicos (amônia ou glutamato) foi observada. JIANG e cols., 1999, avaliaram a segurança clínica, o balanço nitrogenado, a permeabilidade intestinal e os

resultados clínicos de pacientes de pós-operatório que usaram glutamina em solução de nutrição parenteral. Concluíram que todos os parâmetros de segurança, incluindo sinais vitais, funções hepática e renal, lipídeos séricos e reações sistêmicas permaneceram inalterados, não se demonstrando nenhum efeito tóxico com o uso da glutamina.

Existe um temor a respeito da infusão de glutamina devido sua relação bioquímica com a amônia, porém níveis elevados de amônia nunca foram encontrados. Glutamato o qual é produzido durante o metabolismo da glutamina, está intimamente relacionado ao neurotransmissor ácido γ -aminobutírico. No entanto nenhuma toxicidade foi detectada para o sistema nervoso central (SOUBA e cols., 1990).

1.5 Terapia de Reidratação Oral

A doença diarréica constitui o principal fator de agravo nutricional no nordeste do Brasil e em outras áreas de países em desenvolvimento (LIMA e cols., 1992). A taxa de mortalidade associada à desidratação e desnutrição protéico-calórica pode ser reduzida com o uso precoce da solução de reidratação oral (SRO), alimentação e principalmente com o incentivo ao aleitamento materno (SILVA e cols., 1998).

A concentração de sódio na SRO da Organização Mundial de Saúde (OMS) é provavelmente o fator de maior controvérsia. Sua inclusão na SRO tem por finalidade repor o sódio perdido nos processos diarréicos e promover absorção de água através do transporte de sódio ligado à glicose (FERREIRA, 1989).

Nas duas últimas décadas a Organização Mundial de Saúde (OMS) vem recomendando que crianças com desidratação causada por diarréia sejam tratadas com solução eletrolítica que contenha glicose (111 mmol/l) e sódio (90

mmol/l), com osmolaridade total de 311 mmol/l, tendo o cuidado para que as mesmas tenham condições de beber e não possuam desidratação severa. Porém a composição dessas soluções de reidratação oral (SRO) ainda é motivo de controvérsia, principalmente no que diz respeito à concentração de sódio e a osmolaridade total (SANTOSHAM e cols., 1996).

O sódio existente em ambas as composições do soro tem importância no fenômeno de cotransporte, onde o mesmo (sódio) se junta com a glicose ou outras moléculas orgânicas, tipo aminoácidos, atravessando o epitélio intestinal, levando à absorção de água. O potássio se torna necessário na formulação do SRO devido à grande quantidade desse íon que é perdida nas evacuações diarréicas. Normalmente as crianças necessitam de mais potássio que os adultos para repor suas perdas, permitindo uma concentração elevada de potássio na solução de reidratação oral sem com isso ocasionar uma hipercalemia. O citrato tem sido adicionado ao SRO a fim de corrigir algum distúrbio ácido-básico associado com desidratação e aumentar a absorção de sódio e água. A presença do cloro na SRO se torna necessária para um efetivo cotransporte de sódio acoplado à glicose ou outro soluto. A glicose aumenta a absorção de sódio e água da luz intestinal e esse mecanismo se mantém intacto na doença diarréica, consistindo a base da terapia de reidratação oral. Concentração de glicose variando de 70 a 150 mmol/l foi mostrada como sendo efetiva e segura, sendo adequada para compor uma solução ideal. A inclusão de aminoácidos na SRO tem sido proposta tendo como base o aumento da absorção de sódio e água do intestino, podendo potencializar o efeito da glicose, aumentando dessa forma a eficácia da solução de reidratação oral.

A academia Americana de Pediatria e a Sociedade Européia de Gastroenterologia Pediátrica e Nutrição (ESPGAN), ao mesmo tempo em que reconhece a eficácia e segurança do SRO da OMS, recomenda o uso de soluções contendo não mais que 60 mmol/l de sódio e uma osmolaridade total entre 200 e

250 mmol/l para a prevenção da desidratação ou seu uso após correção da desidratação, levando em conta que uma hipernatremia poderá se desenvolver quando soluções de reidratação oral com elevada osmolaridade ou alta concentração de sódio forem ofertadas para crianças eutróficas. (INTERNATIONAL STUDY GROUP ON REDUCED-OSMOLARITY ORS SOLUTIONS, 1995).

Alguns estudos têm avaliado a segurança e eficácia de soluções com osmolaridade reduzida que contêm 60 mmol/l de sódio e 75 a 84 mmol/l de glicose (osmolaridade entre 210 a 224 mmol/l) (RAUTANEN e cols., 1993.). Esses estudos demonstraram que a frequência da diarreia e a duração da mesma foram reduzidas em crianças com diarreia as quais usaram SRO com osmolaridade diminuída, comparadas com crianças que receberam SRO da OMS. EL-MOUGI e cols., 1994, realizaram estudo randomizado sobre a eficácia de uma solução de reidratação oral com osmolaridade diminuída, comparada com a SRO da OMS em crianças com diarreia aguda e sinais de desidratação. Demonstrou-se que nas crianças que utilizaram o SRO da OMS houve piora da diarreia, sede persistente e aumento da concentração sérica de sódio quando comparadas às crianças que utilizaram SRO com osmolaridade diminuída. Esse fato provavelmente ocorreu devido ao aumento do fluxo de água do fluido extracelular para a luz intestinal o qual em algumas crianças não foi totalmente absorvido, talvez pela aceleração do trânsito com incompleta absorção de glicose.

Estudo multicêntrico realizado em quatro países em desenvolvimento, comparando a eficácia clínica da SRO com osmolaridade reduzida com a SRO da OMS em crianças com diarreia aguda demonstrou que a SRO com osmolaridade reduzida apresentou efeitos benéficos no curso clínico da diarreia aguda, com diminuição da duração da mesma em comparação com a SRO da OMS, porém não houve aumento do sódio sérico em nenhuma criança de ambos

os grupos de estudo durante a terapia de reidratação oral, tendo sido encontrado, em alguns casos, diminuição da concentração sérica de sódio nas crianças que utilizaram SRO com osmolaridade reduzida (INTERNATIONAL STUDY GROUP ON REDUCED-OSMOLARITY ORS SOLUTIONS, 1995).

Soluções de reidratação oral a base de glutamina têm sido estudadas *in vitro* e em ensaios clínicos. RHOADS e cols., 1990, determinaram o efeito da glutamina no transporte intestinal de eletrólitos em jejuno de porcos montado em câmaras de Üssing, concluindo que a glutamina promovia uma absorção eletroneutra e uma pequena absorção eletrogênica de sódio no intestino delgado. LIMA e cols., 1992, demonstraram em íleo de coelho montados em câmaras de Üssing que a absorção de sódio na presença de glutamina foi mais efetiva do que com a glicose.

RIBEIRO e cols., 1994, estudaram a eficácia de uma solução de reidratação oral contendo glutamina composta de 90 mmol/l de L-glutamina com 90 mmol/l de glicose comparada à solução de reidratação oral da OMS com 111mmol/l de glicose, para tratar crianças entre um mês e um ano de idade portadoras de diarreia aguda não causada por toxina da cólera e desidratação. O conteúdo de eletrólitos do grupo controle e do grupo em estudo eram idênticos. Eles concluíram que a solução com glutamina foi muito bem tolerada com efeitos similares nos que usaram SRO da OMS. SILVA e cols., 1998 usaram uma solução de reidratação oral a base de 111mmol/l de glutamina, comparada com a SRO da OMS, injetados em segmentos ileais de coelhos estimulados com toxina da cólera, tendo chegado à conclusão que o SRO à base de glutamina reduziu significativamente a secreção de água e aumentou a absorção de sódio. Apesar de não podermos extrapolar resultados de animais para humanos, porém baseados nesses resultados, podemos estimar que a solução de reidratação oral com uma osmolaridade mais baixa e uma concentração de glutamina mais

elevada pode ter efeitos mais eficazes no que diz respeito à absorção de água e eletrólitos quando comparados com a SRO da OMS.

Podemos lançar a glutamina como um nutriente capaz de ser adicionado ao SRO por várias razões: 1) Estimula a absorção de sódio como demonstrado em modelos animais (NATH e cols., 1992; SILVA e cols., 1998); e 2) É considerada uma importante fonte de energia para a mucosa intestinal de animais e humanos (WINDMULLER, 1982).

2 JUSTIFICATIVA

2 JUSTIFICATIVA

Em países em desenvolvimento, a diarreia persistente é responsável por significativa taxa de morbidade e mortalidade em crianças menores de cinco anos de idade e de baixo nível sócio econômico, aparecendo como causa e efeito da desnutrição, aumentando o risco de morte quando associada a esta. Embora a maioria dos episódios de diarreia se resolva dentro de uma a duas semanas, uma proporção de crianças com esta patologia persiste por mais tempo e quando um episódio de diarreia persistente ocorre, o aparecimento ou piora da desnutrição se instala, um ciclo vicioso de deterioração do estado nutricional aparece, levando a um risco substancial de morte (LIMA e cols., 2000). Podemos afirmar que a saúde dos indivíduos, principalmente das crianças, sofre grande influência do meio ambiente, tendo sido demonstrado que crianças que vivem em condições ambientais desfavoráveis e com altos índices de contaminação, podem apresentar alterações morfológicas e funcionais do intestino delgado, quer sejam sintomáticas ou assintomáticas (GUSMÃO e cols., 1993).

Estima-se que cerca de 3 a 20% dos episódios de diarreia aguda em crianças menores que cinco anos tornam-se persistentes e que mais de 50% das mortes provocadas por diarreia estejam associados a episódios de diarreia persistente (VICTORA e cols., 1992). LANATA e cols., 1991, acompanharam 677 crianças abaixo de três anos de idade, na periferia de Lima, Peru por um período de 27 meses e encontraram incidência de 8,1 episódios de diarreia aguda por criança por ano e 0,25 episódios de diarreia persistente. FANG e cols., 1995, avaliando crianças com menos de três anos de idade, no nordeste do Brasil, por um período de três anos mostraram que 10% dos episódios diarreicos evoluíram por mais de 14 dias. LIMA e cols., 2000, realizaram um estudo coorte em uma comunidade de Fortaleza, nordeste do Brasil, a fim de elucidar a epidemiologia, o impacto nutricional e as causas de diarreia persistente nas crianças de 0 a 3

anos de idade. Esse estudo revelou o impacto negativo da diarreia persistente no estado nutricional, revelado pelas medidas de peso/idade e peso/altura. LIMA e cols., 1992, estudando crianças com diarreia persistente no Hospital das Clínicas em Fortaleza, concluíram que a diarreia persistente podia ser considerada uma das maiores causas de morbidade e mortalidade em crianças no nordeste do Brasil, tanto predispondo a um estado de desnutrição como resultando do mesmo. Em 1999 em Guiné-Bissau, foram estudadas 319 crianças abaixo de cinco anos, com diarreia, e destas, 40 (12,5%) evoluíram por mais de 14 dias (PINTO e cols., 1998).

KHALDI e cols., 1995, em estudo realizado na Tunísia em 380 crianças hospitalizadas por diarreia aguda por um período de dois anos, mostraram que destas, 74 (19,5%) evoluíram para diarreia persistente. LINS & SILVA, 2000, mostraram que de 246 crianças menores de 2 anos, avaliadas por doença diarreica em Recife, 140 (56,9%) evoluíram por mais de duas semanas, mostrando que a diarreia persistente apresenta alta prevalência em regiões de baixa renda no Brasil.

Em condições normais o estado nutricional é mantido, principalmente, através da absorção de nutrientes provenientes da dieta, realizada pelo intestino delgado e uma das principais funções da parede intestinal é a de separar o meio interno do indivíduo dos elementos nocivos que chegam à luz intestinal (KONG e cols., 1998). Em condições patológicas, tais como doença diarreica, desnutrição, doença celíaca, doença de Crohn e enteropatia ambiental, existe uma associação importante entre o intestino delgado e o estado nutricional dessas crianças (LIMA, 1998).

Após o advento do uso do soro de reidratação oral para o tratamento da doença diarreica aguda, houve uma diminuição acentuada da mortalidade por essa patologia, elevando, porém, o número de casos de diarreia persistente, a

qual surge como causa e efeito da desnutrição, aumentando o risco quando associada a esta (ANDRADE e cols., 2000).

A desnutrição em crianças pode ser considerada um dos maiores problemas de saúde pública nos países em desenvolvimento. Cerca de 43% das crianças menores de cinco anos nestes países são classificadas como "stunted", ao passo que aproximadamente 9% o são como "wasted" (FAWZI e cols., 1997). Essas crianças por sua vez têm uma motilidade intestinal reduzida, com atrofia da mucosa do intestino delgado levando à redução da quantidade de enzimas digestivas com conseqüente comprometimento da absorção de nutrientes (GOLDEN, 1996). Com este estudo podemos estimar que a permeabilidade intestinal encontra-se diminuída nas crianças desnutridas, podendo ser avaliada de uma maneira não invasiva com o teste de Lactulose/Manitol.

A glutamina é o mais abundante aminoácido encontrado no sangue e no pool de aminoácidos livres do organismo. Sua concentração no músculo esquelético, o principal órgão de síntese e estocagem de glutamina, é trinta vezes maior que a concentração circulante. A glutamina tem múltiplas funções e uma das mais importantes é a de servir como veículo para a transferência de nitrogênio entre os tecidos (SOUBA e cols., 1990). Esse aminoácido é absorvido no intestino delgado, normalmente acoplada com íons sódio e é considerado o principal substrato energético e metabólico para o epitélio intestinal. Esse estudo, pretende ainda que o acréscimo de glutamina ao soro de reidratação oral (OMS) possa vir promover uma restauração eficaz da integridade e permeabilidade alteradas do epitélio intestinal, em crianças desnutridas e com diarreia persistente.

3 O B J E T I V O S

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral:

Demonstrar a segurança e o efeito da glutamina na solução de reidratação oral oferecida a crianças com diarreia persistente e desnutrição.

3.2 Objetivos específicos:

3.2.1 Avaliação clínica e de função renal dos pacientes após adição de glutamina ao Soro de Reidratação Oral, em crianças com diarreia persistente e desnutrição.

3.2.2 Determinar a segurança e a eficácia da Solução de Reidratação Oral com glutamina na recuperação da integridade e permeabilidade intestinal de crianças com diarreia persistente e desnutrição.

3.2.3 Avaliar o efeito da Solução de Reidratação Oral com glutamina no ganho de peso de crianças com diarreia persistente e desnutrição.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Tipo de estudo

Foi realizado um estudo caso-controle, prospectivo, aleatório e duplo cego em 52 crianças atendidas no Serviço de Gastroenterologia do Hospital Infantil Albert Sabin (HIAS) em cooperação com a Unidade de Pesquisas Clínicas do Hospital Universitário Dr. Walter Cantídio (HUWC), Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará no período de junho de 1998 a julho de 2000. As crianças foram selecionadas baseado em dois critérios: Crianças com diarreia persistente ($14 \text{ dias} \leq \text{diarreia} < 30 \text{ dias}$) e crianças desnutridas que se encontrassem na escala de escore Z (desvio padrão escore) do peso/idade $\leq -1,5$ Z escore.

Todas as crianças foram pesadas diariamente e medidas no início e no final do estudo. Os sinais e sintomas (presença e tipo de diarreia, febre, dor abdominal, câimbras, número de evacuações e vômitos nas 24 horas durante os cinco dias de tratamento e estado de hidratação) foram avaliados e anotados diariamente a fim de acompanharmos a evolução clínica de cada criança. Foi realizado balanço hídrico diário, com observação da quantidade de soro ingerida e de outros líquidos. Com relação às perdas, quantificamos o número de evacuações, urina e vômitos diários. No dia que antecedeu e que sucedeu o tratamento (utilização das soluções de reidratação oral por cinco dias, na dose de 50 a 100 ml/Kg/dia) foram realizados o teste de Lactulose/Manitol e colhidos exames laboratoriais para dosagem de uréia e creatinina em todos os pacientes desse estudo.

4.2 Antropometria

Foi selecionado $-1,5$ Z score como padrão classificatório do estado nutricional das crianças estudadas com relação ao peso para a idade, a fim de englobarmos nesse estudo um maior número de crianças, incluindo as formas leve de desnutrição. Foram utilizados como pontos de corte para a classificação do estado nutricional os seguintes parâmetros: A) Desnutrição grave se menor que -3 DP; B) Moderada entre -2 e -3 DP; e c) Leve entre -1 e -2 DP.

Todas as crianças que entraram no estudo foram pesadas diariamente, sem roupas, antes da primeira refeição diária, em balança digital da marca Filizola com sensibilidade menor que $0,1$ Kg durante cinco dias seguidos e medidas com antropômetro com escala em centímetros, até o máximo de um metro no primeiro e último dias do uso das soluções de reidratação oral.

4.3 Critérios de inclusão e exclusão

Como critérios de inclusão foram selecionadas crianças de ambos os sexos, com idade entre dois e sessenta meses as quais apresentavam por ocasião da admissão no estudo diarreia persistente ou desnutrição, com peso/idade $< -1,5$ Z score (desvio padrão score). Foram excluídas aquelas nas quais foram diagnosticadas doenças infecciosas requerendo o uso contínuo de antimicrobianos; as que apresentavam doenças sistêmicas graves, tais como: tuberculose, septicemia, meningite, pneumonia, varicela ou influenza; crianças que estivessem em aleitamento materno exclusivo ou que apresentassem insuficiência hepática, insuficiência renal ou déficit neurológico que compromettesse a deglutição.

4.4 Critérios de saída do estudo

Foram utilizados como critérios de saída do estudo os seguintes aspectos: falha na utilização da Solução de Reidratação Oral, recorrência de desidratação moderada ou severa com distúrbio hidroeletrólítico, alta a pedido, complicações graves ou doenças após admissão que requeressem o uso de antibióticos ou conduta diferenciada, estados de hiperhidratação com níveis plasmáticos elevados de creatinina e/ou uréia e incapacidade de coleta de amostras ou outros dados importantes para a pesquisa.

4.5 Ficha de consentimento

Os pais ou responsáveis pelas crianças foram esclarecidos em relação à ficha de consentimento, as quais foram devidamente assinadas pelos mesmos (no dia que antecedeu ao tratamento com as SRO), consistindo nos esclarecimentos a respeito do diagnóstico da diarreia, da inclusão do paciente no estudo, da possibilidade de exclusão do mesmo, do direito inquestionável de, a qualquer momento, retirarem-se espontaneamente do estudo sem prejuízo no tratamento da criança, do registro e sigilo do acompanhamento clínico via ficha individual, dos testes laboratoriais pertinentes ao estudo e prontificação do investigador ou coordenadores para esclarecimento de dúvidas (Vide Ficha de Consentimento no Anexo 1). Somente após leitura, ciência e assinatura do termo de consentimento foi feita a admissão do paciente ao estudo com abertura de ficha de acompanhamento.

4.6 Questionário Individual

Cada paciente admitido tinha sua ficha individualizada (Vide Questionário Individual no Anexo 2), constando além dos dados pessoais, dados de acompanhamento clínico nos quais se incluíam: duração e classificação da diarreia, duração do tratamento instituído, avaliação clínica dos sinais e sintomas observados diariamente (estado geral, febre, dor abdominal, câimbras, número de evacuações nas 24 horas, número de vômitos nas 24 horas), avaliação nutricional, balanço hídrico diário e resultados de exames laboratoriais e dos testes de lactulose/manitol. Quaisquer observações dos investigadores ou coordenadores da pesquisa foram realizadas no verso da ficha do Questionário.

4.7 Protocolo Laboratorial

4.7.1 Coleta de sangue

Foi realizada coleta de sangue de todas as crianças que entraram no estudo, para dosagem de uréia, creatinina e hemograma completo. As amostras de uréia e creatinina foram sempre colhidas no dia zero (um dia antes do início do tratamento com as soluções de reidratação oral) e no dia 6 (dia que sucedeu o final do tratamento com as soluções de reidratação oral). (Figura 7 - Protocolo Clínico).

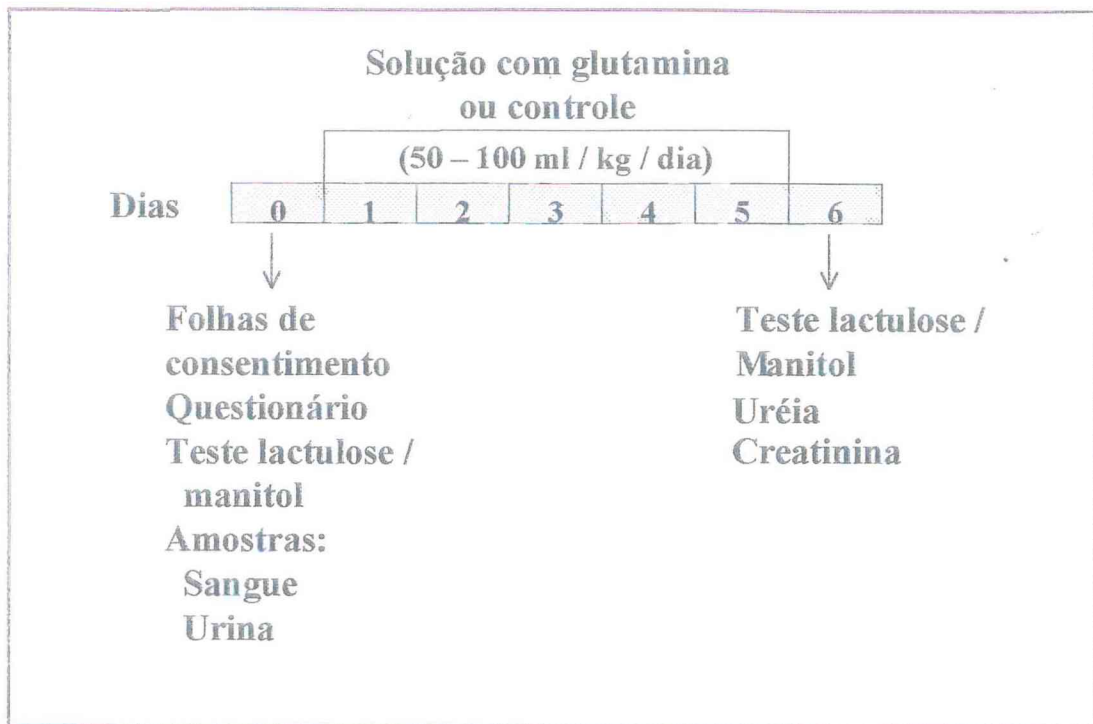


Figura 7 – Protocolo de coleta de exames antes e após tratamento com Solução de Reidratação Oral (SRO) – OMS e SRO - Glutamina.

4.7.2 Dosagem de Uréia e Creatinina

As dosagens de uréia e creatinina foram realizadas no laboratório de análises clínicas do Hospital Infantil Albert Sabin um dia antes do início do tratamento com as soluções de Reidratação Oral (dia 0) e um dia depois do término do tratamento com essas soluções (dia 6). As medidas de uréia no soro foram dosadas utilizando o kit diagnóstico Technicon RA (Bayer Corporation, Tarrytown, NY). A creatinina foi medida utilizando o kit Sera-Pak Creatinina da Bayer Corporation.

4.7.3 Teste de Permeabilidade Intestinal com Lactulose e Manitol

Para validar o teste de permeabilidade intestinal utilizando lactulose e manitol, elegemos como base um estudo coorte realizado na comunidade Gonçalves Dias, desenvolvido na Unidade de Pesquisas Clínicas do HUWC e Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará (UFC) (Barboza e cols, 1999). Esse teste foi também validado em voluntários adultos saudáveis, pacientes HIV positivo com e sem diarreia, atendidos no Hospital São José, Fortaleza, CE-Brasil (LIMA e cols, 1997).

Após três horas de jejum, as crianças tomaram a solução-teste (2ml/Kg até no máximo 20 ml) de 5g de lactulose (250mg/ml) obtida da Luitpold Produtos Farmacêuticos Ltda., Barueri SP e 1g de manitol (50mg/ml) adquirida da HenriFarma Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda., São Paulo, SP, em 20 ml de água potável. A urina foi coletada por cinco horas em recipiente contendo 1 ml de clorhexidine (40mg/ml) adquirida da Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO). O volume total de urina foi anotado e uma amostra de 5 ml foi estocada a -20 °C para posterior dosagem de lactulose e manitol pelo método de cromatografia líquida de alta pressão com detecção amperométrica pulsada (HPLC-PAD) (Figura 8).

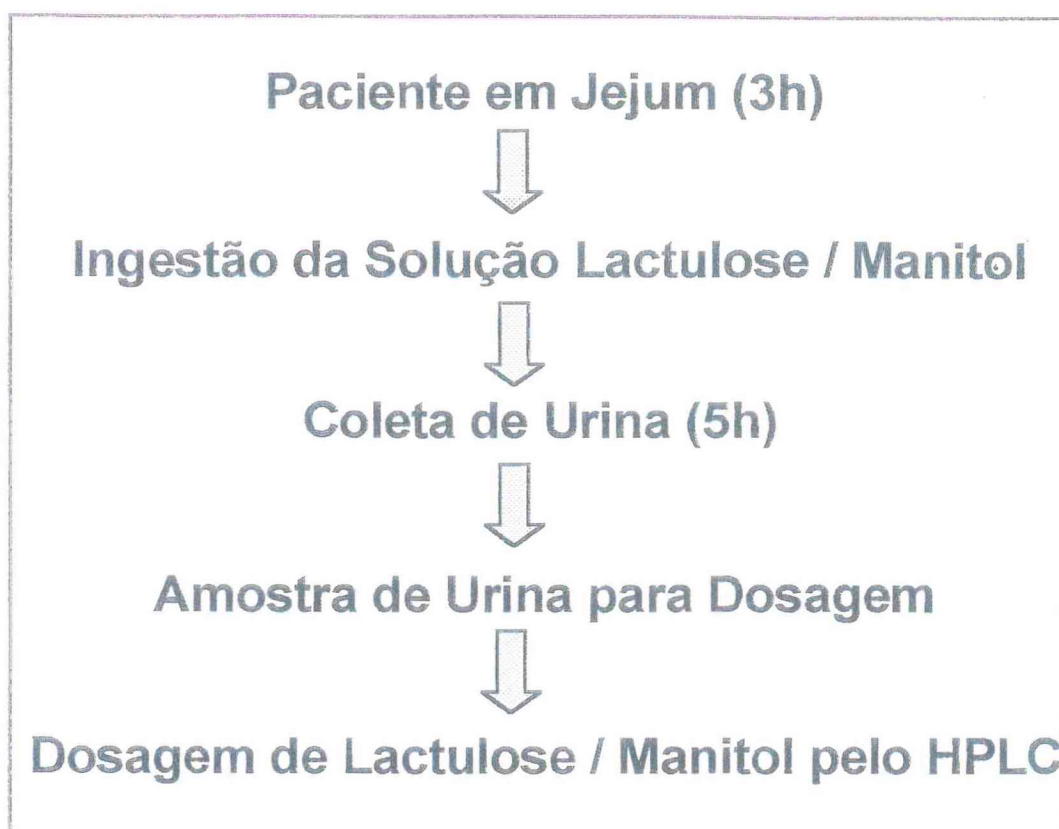


Figura 8 – Seqüência do Teste de Permeabilidade Intestinal (LIMA, 1998).

4.7.4 Cromatografia Líquida de Alta Pressão para determinação de Monossacarídeos e Dissacarídeos.

As medidas de lactulose e manitol foram realizadas segundo o método de BARBOZA et al. (1999). As amostras de urina dos pacientes foram preparadas da seguinte maneira: 50 μ l de urina mais 50 μ l de uma solução contendo melibiose (3,6 mM) foram diluídas em 2,9 ml de água bidestilada e deionizada. Neste método a melibiose foi incluída como padrão interno das dosagens dos açúcares lactulose e manitol. Após centrifugação, 50 μ l de cada amostra foi

injetado automaticamente utilizando o AS40 Automated Sampler e o seguinte sistema: GP40 Gradient Pump; CarboPac MA-1 anion-exchange column (250 x 4.0 mm i.d., pellicular resin); e ED40 Electrochemical Detector (Dionex Co., Sunnyvale, CA, USA). As análises dos açúcares foram determinadas utilizando o PeakNet System (Dionex Co., Sunnyvale, CA, USA). Os açúcares foram diluídos no solvente hidróxido de sódio (NaOH) em concentração constante de 480 mM, fluxo da bomba de 0,4 ml/min e com a coluna (CarboPac MA-1) na temperatura ambiente do laboratório.

4.8 Grupos de Tratamento

Os grupos de tratamento utilizados foram: crianças que utilizaram a SRO-Glutamina (grupo teste) e aquelas que utilizaram a SRO-Glicose da OMS (grupo controle) (Tabela 2).

Ambas as soluções (SRO-Gln e SRO-OMS) foram oferecidos na dose de 50 a 100 ml/Kg a cada criança que entrava no estudo, durante cinco dias, sendo realizado o teste de Lactulose/Manitol um dia antes do início do uso das SRO e repetido no sexto dia, após tratamento com as soluções. A avaliação do ganho de peso foi realizada sobre o valor do peso da criança antes e o valor após o tratamento com as soluções de reidratação oral.

Tabela 2 - Composição das soluções de reidratação oral à base de glutamina (SRO-Gln) e da solução padrão recomendada pela Organização Mundial de Saúde (SRO-OMS)

Composição^a	SRO g / L	SRO (mmol/L)	SRO-Gln g / L	SRO-Gln (mmol/L)
NaCl	3,5	Na ⁺ (90)	3,5	Na ⁺ (90)
KCl	1,5	K ⁺ (20)	1,5	K ⁺ (20)
Citrato de sódio	2,9	Cl ⁻ (80)	2,9	Cl ⁻ (80)
Glicose^b	20,0	Gli (111)	16,2	Gli (90)
Glutamina^b	-	-	13,1	Gln (90)

^a Todos os sais e a glicose são formulações galênicas e foram obtidas da HenriFarma Produtos químicos e Farmacêuticos Ltda., São Paulo, SP. A glutamina, 100% pura, é também uma formulação galênica e foi adquirida da Cambridge Nutraceuticals, Boston, MA.

^b Glicose (P.M. = 180 Da) e Glutamina (P.M. = 146 Da).

4.9 Análise de Dados

Os dados demográficos, clínicos, antropométricos e laboratoriais foram digitados na planilha Excel 4.0 (Microsoft Corporation, Cupertine, CA state) e validados por dois observadores independentes. Os parâmetros antropométricos foram calculados utilizando o programa Epi info V-5.0 (USD, Stone Mountain, GA). As concentrações e percentuais de excreção de lactulose e manitol, bem como as taxas de lactulose/manitol foram calculadas utilizando a planilha do Excel. Para análise descritiva e estatística comparativa entre os grupos experimentais, os resultados foram exportados para o banco de dados do programa Statistical Package for Social Science (SPSS Inc, Chicago, Il), V-7.0. Os parâmetros qualitativos foram analisados usando o teste do Qui-Quadrado e

os parâmetros quantitativos, uma vez validados pelo teste de variância, foram analisados utilizando o teste "t" de Student. Os parâmetros analisados os quais apresentaram valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

4.10 Comissão de Ética

O protocolo experimental foi examinado e aprovado pela Comissão de Ética da Faculdade de Medicina (Vide Declaração – Anexo 3).

Para todas as crianças admitidas no estudo, anexou-se ao protocolo de pesquisa a ficha de consentimento devidamente assinada pelo pai e/ou responsáveis legais. Assegurou-se às crianças e seus responsáveis o direito inquestionável de, a qualquer momento, retirarem-se espontaneamente do protocolo, sem prejuízo ou solução de continuidade em seu trabalho e assistência ambulatorial e/ou hospitalar, colocando-se sempre em primeiro lugar, o máximo controle possível da doença.

5 RESULTADOS

5 RESULTADOS

5.1 Características da população

De junho de 1998 a julho de 2000, 52 crianças foram selecionadas a fazer parte desse estudo; 26 foram aleatoriamente escolhidas a receber a solução da OMS (grupo controle) e 26 a utilizar a solução com adição de glutamina (grupo teste) (Tabela 3).

Os dados coletados dessas 52 crianças demonstraram que com relação a idade houve uma dispersão maior no grupo controle, tendo esse dado ocorrido devido ao fato de duas crianças no grupo controle terem idade no limite máximo definido para a idade nesse estudo (60 meses). A comparação da idade entre os dois grupos não foi estatisticamente diferente.

Quanto ao sexo, ambos os grupos mantiveram uma proporção semelhante, pouco diferindo quantitativamente.

No que diz respeito ao estado nutricional, não houve diferença significativa com relação aos parâmetros de Z escore para Peso/Idade, Altura/Idade e Peso/Altura, demonstrando que os grupos foram semelhantes quanto a esse parâmetro e que todas as crianças encontravam-se desnutridas com padrão Z escore abaixo de -1,5 DP para Peso/Idade.

Das 52 crianças, três saíram do estudo: uma porque teve pneumonia no quarto dia do início do estudo e necessitou do uso de antibiótico; a segunda porque a mãe saiu de alta a pedido antes do término do estudo e a terceira porque não foi possível colher urina por encontrar-se sempre misturada com fezes.

Tabela 3 - Características da população estudada, quanto ao sexo, idade e estado nutricional ^a.

Características	SRO-OMS N=26	SRO-Gln ^b N=26
Idade (Meses)	24,9 ± 19,9	12,6 ± 9,8
Sexo		
Masculino	46,2% (12)	50% (13)
Feminino	53,8% (14)	50% (13)
Estado Nutricional *		
Peso / Idade	-3,0 ± 1,3	-2,6 ± 3,8
Altura / Idade	-1,8 ± 1,0	-1,8 ± 2,6
Peso / Altura	-2,9 ± 2,0	-2,3 ± 2,9

^a Os dados são mostrados em média ± desvio padrão. Os grupos não apresentaram diferenças significativas com $p < 0,05$, utilizando teste *t* de Student ou Qui-Quadrado.

^b SRO-Gln = soro de reidratação oral com glutamina; os controles utilizaram a solução-padrão recomendado pela Organização Mundial de Saúde (OMS)- (SRO-OMS).

- Os dados nutricionais são mostrados em valores de escore Z, segundo critérios da Organização Mundial de Saúde (WHO, 1995).

5.2 Função renal

A função renal de cada paciente foi avaliada no primeiro e no sexto dia do protocolo experimental, conforme metodologia descrita. Não houve alterações na função renal de todos os pacientes de ambos os grupos, demonstrando não

haver toxicidade renal com o uso da glutamina adicionada a soluções de reidratação oral em crianças com diarreia persistente e desnutrição. (Tabela 4).

Tabela 4 – Avaliação da função renal com o uso das soluções de reidratação oral.

Função Renal	SRO-OMS N=25	SRO-Gln ^b N=24
Uréia (Dia 0) ^a	19,35 ± 9,4	20,6 ± 13,7
Uréia (Dia 6) ^b	19,68 ± 8,8	21,04 ± 10,8
Creatinina (Dia 0) ^a	0,52 ± 0,2	0,53 ± 0,2
Creatinina (Dia 6) ^b	0,52 ± 0,2	0,50 ± 0,2

^a Dia 0: Dia que antecede o início da utilização da solução de reidratação oral da OMS (SRO-OMS) ou solução de reidratação oral com glutamina (SRO-Gln).

^b Dia 6: Dia que sucede o fim do uso da SRO-OMS ou da SRO-Gln.

Os dados são mostrados em média ± desvio padrão. Os grupos não apresentaram diferenças significativas com $p < 0,05$, utilizando o teste *t* de Student.

Os valores de Uréia e Creatinina foram dosados em mg/dl.

5.3 Efeito da solução de reidratação oral, com e sem adição de glutamina, na permeabilidade intestinal.

Das 52 crianças selecionadas para o estudo, 41 realizaram ambas as dosagens de lactulose e manitol, assim como a taxa de Lactulose/Manitol, antes e depois do uso da solução de reidratação oral com e sem glutamina, a fim de ser avaliada a permeabilidade intestinal e o grau de lesão intestinal de cada paciente.

Dos onze pacientes os quais não foi possível realizar ou o primeiro ou o segundo teste de L/M, três saíram do estudo. Um deles de alta a pedido, o

segundo por apresentar pneumonia no quarto dia depois de iniciada a solução de reidratação oral, necessitando do uso de antibióticos, e o terceiro por incapacidade de realização do teste de L/M, devido mistura de fezes com urina na hora da coleta de urina durante cinco horas. Cinco pacientes não tiveram suas amostras de urina disponíveis para dosagem de lactulose e manitol. Amostras de urina de três crianças não permitiram a detecção de picos de lactulose e manitol pela técnica de HPLC, sendo que duas dessas crianças regurgitaram parte da solução administrada e uma não ingeriu a solução por completo.

O grupo controle (SRO-OMS) apresentou aumento significativo com relação às dosagens de lactulose inicial e final (Figura 9), com valor de $p = 0,039$ demonstrando uma evolução da lesão intestinal nos pacientes que utilizaram esse tipo de soro. Já o grupo que utilizou a SRO-Gln apresentou uma diminuição dos valores de lactulose final em relação à inicial (Figura 10).

Quando comparamos os grupos controle (SRO-OMS) com o grupo teste (SRO-Gln) com relação ao manitol, encontramos uma tendência a uma maior diminuição da área absortiva intestinal com o uso do SRO-OMS (Figura 11) em relação ao uso da SRO-Gln (Figura 12), embora não tenha sido encontrada significância estatística ($p = 0,849$ no grupo controle e $p = 0,816$ no grupo teste) (Tabela 5).

Com relação à taxa de Lactulose/Manitol (L/M) inicial e final, o grupo controle (SRO-OMS), apresentou aumento significativo com valor de $p = 0,044$ (Figura 13), e o grupo que utilizou SRO com glutamina (SRO-Gln) (Figura 14) houve uma tendência à manutenção dos mesmos valores dessa taxa, levando-nos a postular que o uso de uma solução à base de glutamina em crianças desnutridas ou com diarreia persistente tem um efeito protetor, podendo vir a diminuir a evolução da lesão intestinal dessas crianças, mesmo com o uso curto, cinco dias, dessa terapêutica. (Tabela 5).

Tabela 5 – Efeito das Soluções de Reidratação Oral na área de absorção, lesão e permeabilidade intestinal.

Dosagem	SRO-OMS N=21	p	SRO-Gln N=20	p
Lactulose Inicial (L1) ^a	0,3236 ± 0,0714	0,039	0,8471 ± 0,2850	0,722
Lactulose Final (L2) ^b	0,7618 ± 0,2150		0,7160 ± 0,3530	
Manitol Inicial (M1) ^a	3,6997 ± 1,6880	0,849	7,2270 ± 2,7820	0,816
Manitol Final (M2) ^b	3,3075 ± 1,0950		8,4727 ± 4,6250	
L / M 1 ^a	0,3293 ± 0,1590	0,044	0,2171 ± 0,0506	0,602
L / M 2 ^b	0,5095 ± 0,2270		0,2631 ± 0,1040	

^a L1, M1, L / M1: Dosagem de lactulose e manitol pela cromatografia líquida de alta pressão (HPLC) no dia 0 que antecede o início do uso das Soluções de Reidratação Oral (SRO).

^b L2, M2, L / M2: Dosagem de lactulose e manitol pela (HPLC) no dia 6 o qual sucede o último dia de ingestão das SRO.

Os dados são mostrados em média ± erro padrão da média. O grupo que utilizou SRO-OMS mostrou diferença significativa, teste "t" de Student pareado, na dosagem de L1 e L2, com $p = 0,039$ e na relação L / M1 e L/M2, com $p = 0,044$.

Percentual de Excreção de Lactulose

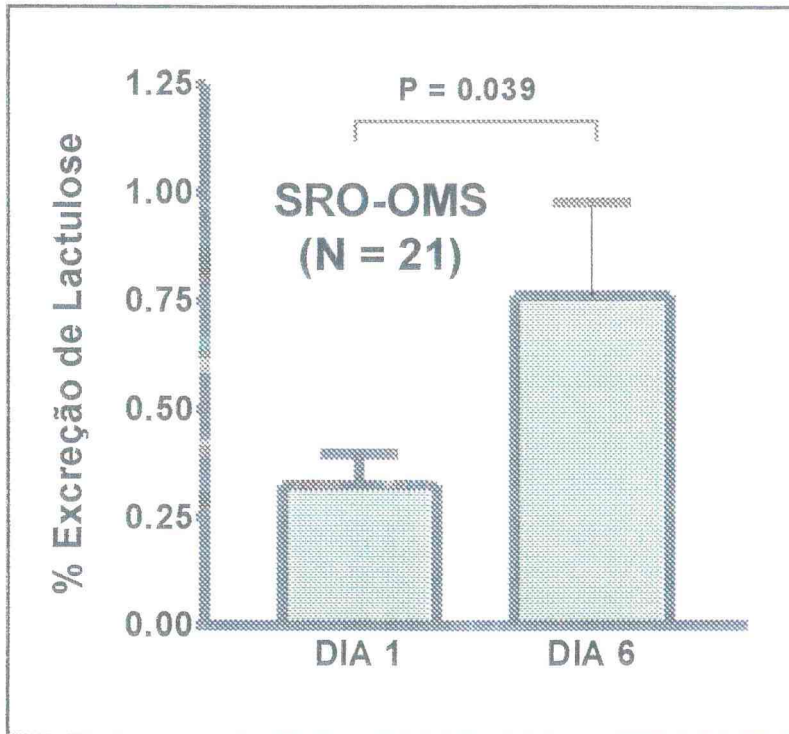


Figura 9 – Percentual de excreção de lactulose em crianças com diarréia persistente e desnutrição, que utilizaram a Solução de Reidratação Oral da Organização Mundial de Saúde (OMS) (SRO-OMS). O tratamento com essa solução não foi capaz de prevenir o aumento significativo do percentual de excreção de lactulose.

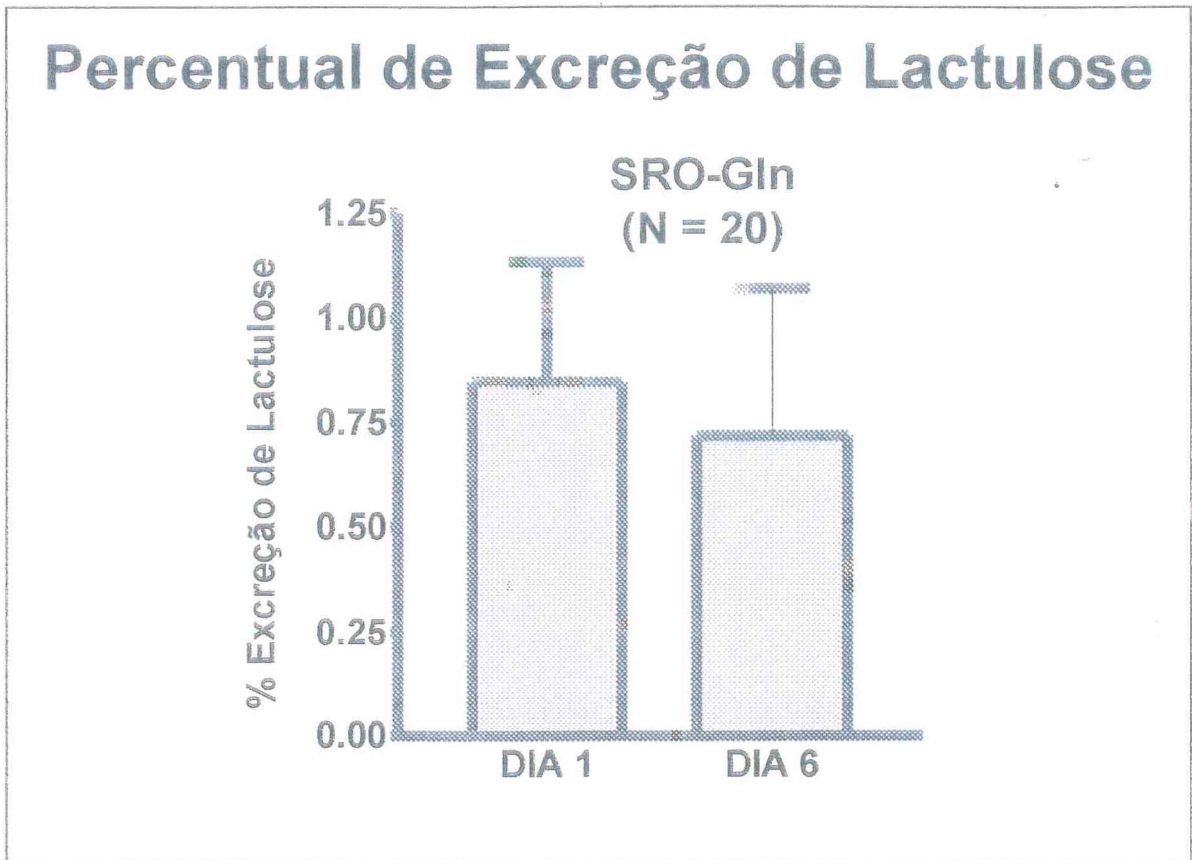


Figura 10 - Percentual de excreção de lactulose em crianças com diarreia persistente e desnutrição que utilizaram a Solução de Reidratação Oral – Glutamina (SRO-Gln). O tratamento com glutamina reduz e previne o aumento da lesão intestinal medido através do percentual de excreção de lactulose.

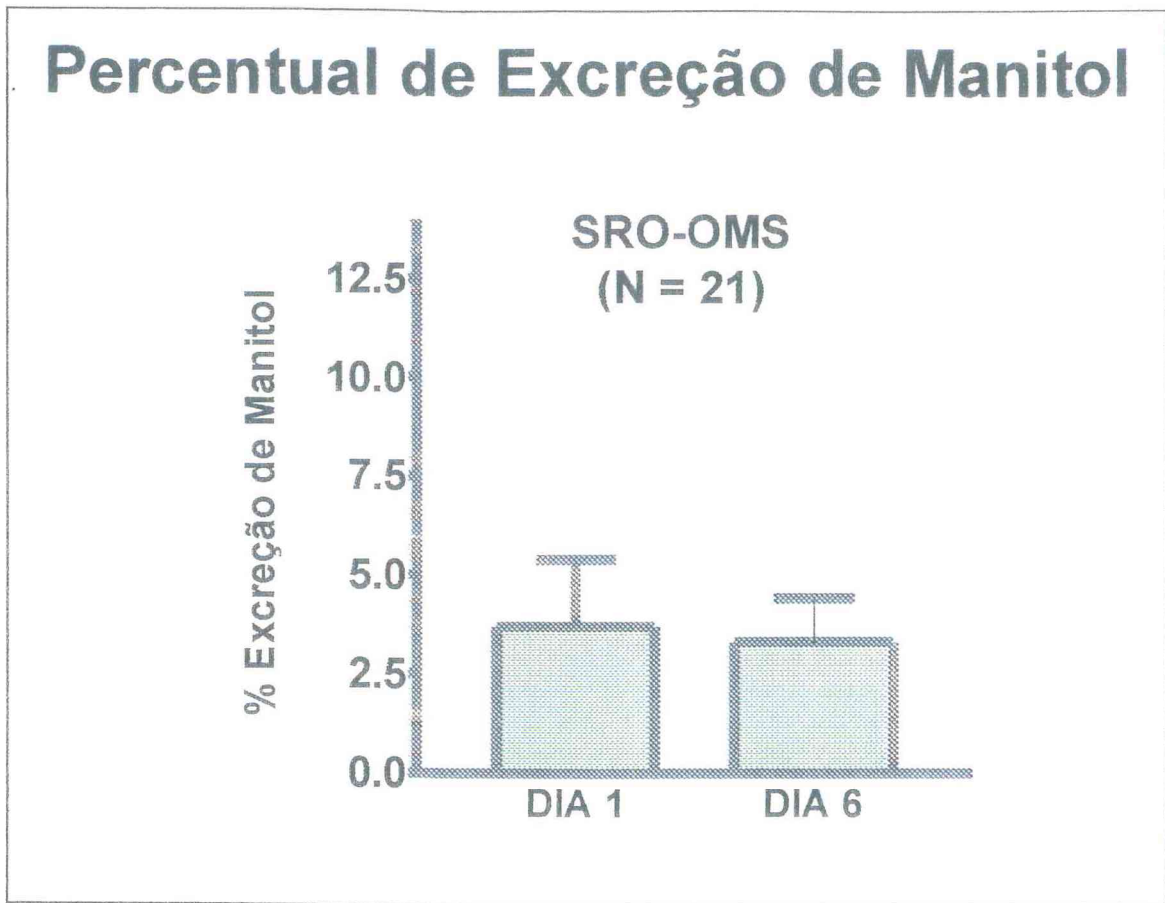


Figura 11 - Percentual de excreção de manitol em crianças com diarreia persistente e desnutrição que utilizaram a Solução de Reidratação Oral – OMS (SRO-OMS). O tratamento com essa solução não alterou significativamente a área de absorção medida através do percentual de excreção de manitol.

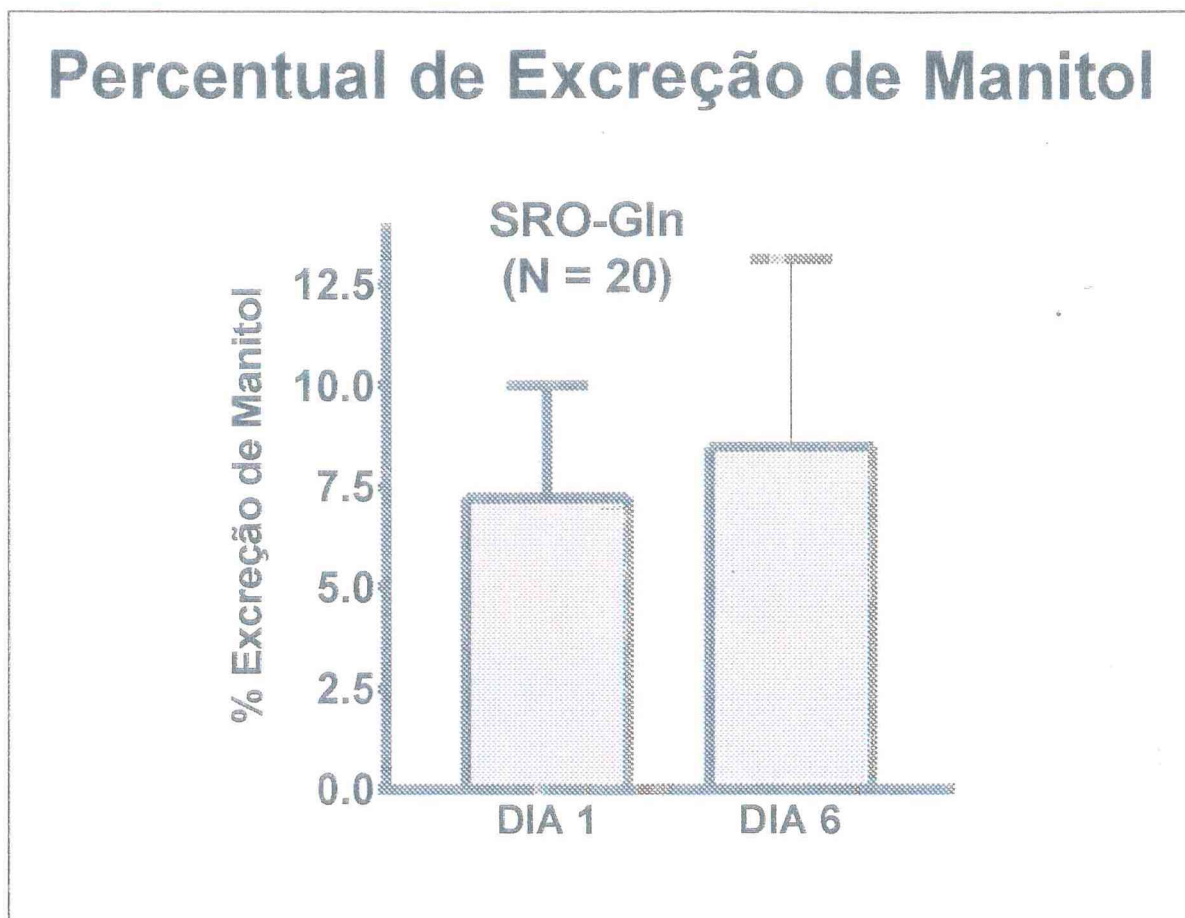


Figura 12 - Percentual de excreção de manitol em crianças com diarreia persistente e desnutrição que utilizaram a Solução de Reidratação Oral – Glutamina (SRO-Gln). O tratamento com essa solução alterou a área de absorção intestinal, medida através do percentual de excreção de manitol.

Taxa de Lactulose / Manitol

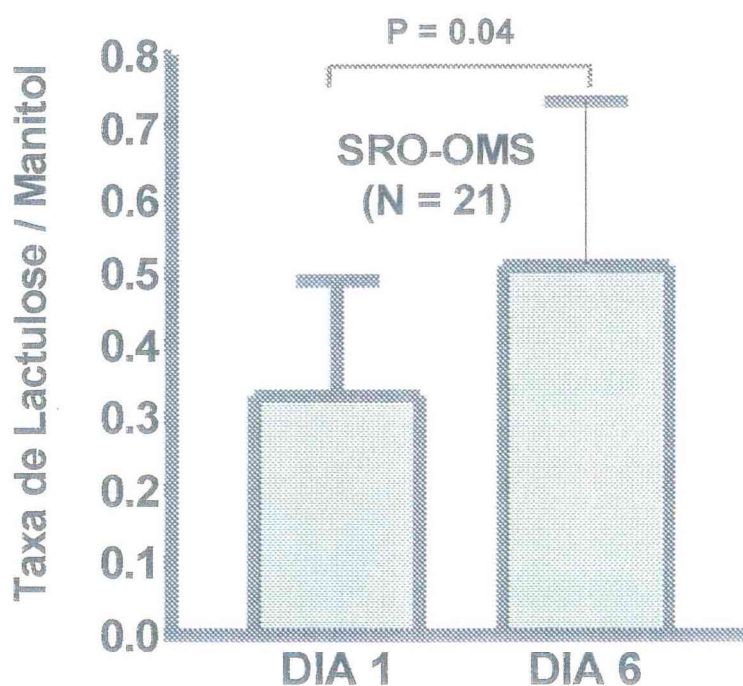


Figura 13 – Taxa de excreção de Lactulose / Manitol em crianças com diarreia persistente e desnutrição que utilizaram a Solução de Reidratação Oral – Organização Mundial de Saúde (OMS) (SRO-OMS). O tratamento com essa solução não foi capaz de prevenir a alteração de permeabilidade intestinal medida através da taxa de Lactulose/Manitol.

Taxa de Lactulose / Manitol

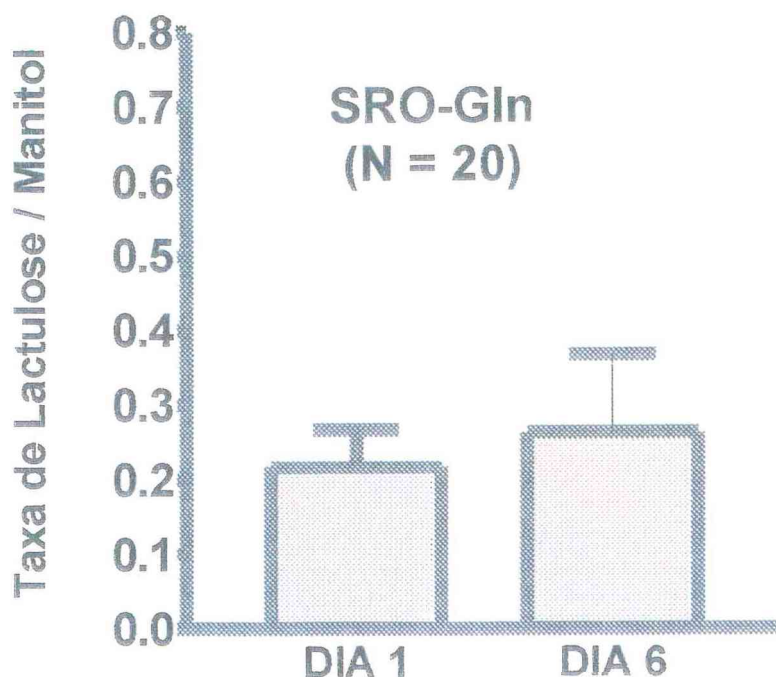


Figura 14 – Taxa de excreção de Lactulose / Manitol em crianças com diarreia persistente e desnutrição que utilizaram a Solução de Reidratação Oral – Glutamina (SRO-Gln). O tratamento com essa solução diminuiu a velocidade da evolução da lesão intestinal medida através da taxa de excreção de Lactulose/Manitol.

5.4 Ingestão da Solução de Reidratação Oral com e sem glutamina

Ao ser comparada a quantidade de SRO ingerida por ambos os grupos nos dois primeiros dias, encontrou-se uma diferença significativa na quantidade ingerida da SRO-Gln com relação à ingestão de SRO-OMS, com valores de $p = 0,008$ no primeiro dia e $p = 0,013$ no segundo dia. Nos últimos três dias de tratamento não houve diferença significativa com relação à ingestão de SRO. (Tabela 6).

Tabela 6 – Ingestão de Solução de Reidratação Oral (SRO) com e sem adição de Glutamina ^a.

Dias da Ingestão	SRO-OMS (ml / Kg)	SRO-Gln (ml / Kg)	p
Dia 1	41,26 ± 17,6	59,75 ± 29,0	0,008
Dia 2	47,81 ± 30,04	69,48 ± 29,9	0,013
Dia 3	51,21 ± 28,28	66,66 ± 32,95	0,078
Dia 4	52,73 ± 28,64	59,35 ± 21,17	0,357
Dia 5	47,12 ± 28,60	60,02 ± 22,04	0,084

^a Os dados são mostrados em média ± desvio padrão. Houve diferença significativa na quantidade de ingestão da SRO – Gln com relação a SRO – OMS com $p = 0,008$ e $p = 0,013$ nos 1^o e 2^o dias respectivamente.

Dias 1, 2, 3, 4 e 5: Dias em que foram oferecidas a Solução de Reidratação Oral da Organização Mundial de Saúde (SRO – OMS) ou a Solução de Reidratação Oral com glutamina (SRO-Gln).

5.5 Efeito da SRO com e sem glutamina em relação ao ganho de peso

Quando foram comparados o ganho de peso apresentado por ambos os grupos nos cinco dias de tratamento com as Soluções de Reidratação Oral, observou-se que houve diferença significativa no ganho ponderal das crianças que fizeram uso da Solução de Reidratação Oral com glutamina em relação às que fizeram uso da Solução de Reidratação Oral da OMS, com valor de $p = 0,002$ (Tabela 7).

Tabela 7 – Efeito da glutamina no ganho de peso de crianças com diarreia persistente e desnutrição.

Peso médio das crianças em grama	SRO-OMS ^a N=25	p	SRO-Gln ^b N=24	p
Inicial (dia 1)	7,559 ± 579		5,456 ± 405	
		0,33		0,002
Final (dia 6)	7,645 ± 580		5,636 ± 418	

a, b SRO-OMS - Solução de Reidratação Oral da OMS; SRO-Gln – Solução de Reidratação Oral com glutamina.

Os dados são mostrados em média ± desvio padrão. Estatística realizada com teste *t* de Student com amostras pareadas.

5.6 Avaliação Clínica das crianças com Diarréia Persistente e desnutrição.

Todas as crianças desse estudo apresentaram algum tipo de déficit nutricional. Não encontramos diferença nos parâmetros clínicos entre o grupo controle (SRO-OMS) e o grupo teste (SRO-Gln). A Tabela 8 mostra a frequência dos sintomas observados durante os cinco dias de tratamento.

Tabela 8 – Avaliação Clínica das Crianças com Diarréia Persistente e Desnutrição.

PARÂMETROS CLÍNICOS	CRIANÇAS (N = 52)
	% (N)
DOENÇA DIARRÉICA *	42 (22/52)
Aguda (<14 d)	32 (7)
Persistente (≥14 d)	68 (15)
DESIDRATAÇÃO	0 (0/52)
DOR ABDOMINAL	2 (1/51)
VÔMITOS	8 (4/51)
FEBRE (≥37,8 °C)	6 (3/51)
CÃIMBRAS	0 (0/52)

* História da doença diarréica documentada na admissão do paciente.

6 DISCUSSÃO

6. DISCUSSÃO

6.1 Desnutrição Protéico Calórica, Diarréia e Epitélio Intestinal

A desnutrição é a segunda causa de morte mais freqüente em crianças menores de cinco anos de idade em países em desenvolvimento (WHO, 1995). 56% das mortes de crianças são atribuídas à desnutrição, devido aos efeitos potencializadores das formas moderadas e leves dessa doença (PELLETIER e cols., 1995).

Devido a sua magnitude e conseqüências desastrosas para o crescimento, desenvolvimento e sobrevivência das crianças, a desnutrição continua a ser um dos problemas mais importantes de saúde pública do mundo atual apesar do direito inalienável de todo ser humano de não padecer de fome e desnutrição ter sido reafirmado sucessivamente em conferências dos países membros das Nações Unidas, (MONTE, 2000). Por recomendação da OMS são utilizados os indicadores altura por idade, peso por altura e peso por idade para a classificação do estado nutricional (WHO, 1995). Os pontos de corte para a classificação do estado nutricional (desnutrição grave se menor que -3 DP, moderada entre -2 e -3 DP e leve entre -1 e -2 DP) são baseados, nos indicadores antropométricos, nos impedimentos funcionais, nos riscos aumentados de morbidade e mortalidade e em fatores de risco relacionadas a alimentos e a fatores de risco não alimentares (MONTE, 2000).

No Brasil, assim como na maioria dos países em desenvolvimento, como resultado de ganhos econômicos e de grande expansão de serviços e programas de saúde, houve melhora na situação nutricional dos menores de cinco anos de idade nos últimos anos. No entanto o fato de que a forma atual mais comum de desnutrição ser a crônica, expressa principalmente pelo déficit de altura por idade, e a existência atual de um percentual, embora não muito alto, de crianças

desnutridas graves, ao lado da sua concentração nas regiões mais pobres do país, as regiões Norte e Nordeste, indicam que o problema não está de todo controlado (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1996). Sabemos que a existência de casos de desnutrição grave, mesmo que em pequeno número, representa o topo de um *iceberg*. Para cada caso grave há muitos outros que são menos graves, às vezes sem sinais clínicos típicos de desnutrição (WATERLOW, 1997).

Foi amplamente demonstrado que o estado de saúde das crianças sofre enorme influência do meio ambiente, tendo sido descrito que indivíduos assintomáticos, vivendo em condições desfavoráveis, apresentam alterações funcionais e morfológicas do intestino delgado, como alterações inespecíficas observadas a nível de microvilosidades, como encurtamento, rarefação e até mesmo ausência dessas estruturas, levando a uma perda na capacidade de absorção e conseqüente desnutrição (MARTINS e cols. 1991).

A permeabilidade se refere à capacidade da mucosa intestinal de permitir a passagem de moléculas por difusão. BREWSTER e cols., 1997, usando o teste de lactulose/ramnose em 149 crianças hospitalizadas na Malásia, demonstraram que o grau de dano intestinal existente em pacientes com Kwashiokor estava diretamente relacionado com a severidade da desnutrição. BREWSTER e cols., 1997, em outro estudo, compararam o uso de uma dieta à base de leite com outra à base de milho na diminuição da permeabilidade intestinal em pacientes com kwashiokor, internados em um hospital da Malásia, usando o teste de lactulose/ramnose. Ambos os trabalhos demonstraram a relação existente entre a lesão intestinal e o grau de desnutrição no qual se encontra o paciente.

Esse trabalho demonstrou que todas as crianças que foram selecionadas para o estudo encontravam-se com algum grau de comprometimento nutricional, sendo que a desnutrição protéico-calórica, associada ou como conseqüência de outras patologias mostrou uma tendência a alterações morfológicas da mucosa

intestinal dessas crianças, com aumento da permeabilidade intestinal, demonstrada pelo teste de lactulose/manitol (L/M).

A doença diarréica é considerada um dos principais problemas de saúde pública, principalmente em crianças de países em desenvolvimento (LIMA e cols., 1992). Em alguns lugares do mundo, onde a terapia de reidratação oral tem sido empregada em larga escala para a diarréia aguda, a diarréia persistente tem se tornado uma importante causa de morbidade e mortalidade (SCHORLING e cols., 1990).

Quando a diarréia se torna persistente, o aparecimento ou piora da desnutrição passa a ser um ciclo vicioso, levando a um estado contínuo de diarréia com substancial risco de morte (GUERRANT e cols., 1992).

As principais complicações resultantes das doenças diarréicas são a desidratação e a desnutrição (SCHORLING e cols, 1990; BHAN e cols., 1994). Vários trabalhos têm demonstrado significativas alterações na integridade e permeabilidade intestinais resultantes de doenças diarréicas e/ou desnutrição (BEHRENS e cols, 1987; NATH e cols, 1992; GOODGAME e cols, 1995; LIMA e cols., 1997). LIMA e cols., 2000, verificaram a influência da diarréia persistente no estado nutricional, através da avaliação do Peso/Idade e do Peso/Altura, demonstrando uma redução no índice Peso/Idade nos pacientes com diarréia persistente, três meses após esse episódio.

Estudo caso-controle de 756 crianças entre 3 e 69 meses de idade foi realizado durante 18 meses numa área rural no norte da Índia, demonstrou que o índice Peso/Idade \leq ao percentil 70 estava associado com diarréia persistente quando comparado com crianças controle que tinham diarréia aguda ou não apresentavam diarréia (BHANDARI e cols., 1989).

Esse estudo demonstrou que a solução oral contendo 90 mmol/L de glicose e 90 mmol/L de glutamina pode ser considerada eficaz em reduzir a taxa

de L/M, demonstrando com isso um efeito na recuperação da estrutura e função do intestino de crianças com desnutrição ou diarreia persistente.

6.2 Importância do teste de Permeabilidade Intestinal com Lactulose e Manitol

A taxa de excreção de lactulose/manitol na urina tem sido usada como um importante teste de permeabilidade intestinal em crianças com desnutrição e diarreia, tendo importantes vantagens por tratar-se de um teste não invasivo e de extrema confiabilidade (BREWSTER e cols., 1997).

FORDTRAN e cols., 1965, usaram marcadores moleculares para determinação da permeabilidade intestinal em seres humanos, tendo sido aceito a partir daí que um marcador ideal não deve ser reconhecido pelo sistema imune, deve ser biologicamente inerte e atóxico, excretado por via renal, através de filtração glomerular exclusiva, possibilitando dessa forma sua detecção e medida na urina.

PEARSON e cols., 1982, utilizaram lactulose e manitol para o estudo de permeabilidade intestinal em várias patologias, como a doença celíaca, doença de Crohn, diarreia e síndrome de má-absorção.

Para o teste de permeabilidade intestinal o uso de duplo açúcar tem tido melhores resultados quando comparados com aqueles usando somente um marcador (MENZIES, 1983). Os dois principais açúcares utilizados para esse fim são a lactulose e o manitol (UKABAM & COOPER, 1984; ANDRE e cols, 1988; JUBY e cols, 1989). Ambos diferem no tamanho molecular e pela via de permeação no epitélio gastrointestinal. O manitol tem um raio de 0,4 nm e é absorvido pela via transcelular, através dos poros hidrofílicos da membrana. A lactulose, por apresentar um raio de 0,52 nm, é absorvida via paracelular, dependente das zônulas de oclusão e/ou lesão celular (PEARSON e cols., 1982).

Dessa forma, a perda da integridade da mucosa ocasiona um aumento na absorção de lactulose, enquanto a perda da área absorptiva diminui a absorção de manitol (BARBOZA e cols., 1999).

Foi demonstrado nesse estudo que a permeabilidade aos dissacarídeos estava aumentada e que a absorção de manitol encontrava-se diminuída.

O teste combinando os dois açúcares tem a vantagem de não ser invasivo, sendo os carboidratos medidos e analisados pelo método de cromatografia líquida de alta pressão com detecção amperométrica (HPLC-PAD). Através dessa técnica, lactulose e manitol podem ser separados, bem como isolados de outros açúcares na urina. A preparação das amostras para o método de HPLC-PAD é extremamente rápida e simples (BEHRENS e cols, 1983; TRAVIS e MENZIES, 1992; BAO e cols, 1996;).

Em crianças com diarreia aguda, o teste de permeabilidade mostrou alterações na permeabilidade intestinal, utilizando marcadores com dois ou mais açúcares (FORD e cols, 1985; BEHRENS e cols, 1987;). FORD e cols. (1985) estudaram 39 crianças (um mês a três anos de idade) com diarreia e 28 (seis meses a quinze anos de idade) crianças-controle e mostraram que aquelas com diarreia apresentavam alterações significativas na permeabilidade intestinal. BEHRENS e cols., 1987 estudaram 68 crianças abaixo de 18 meses de idade, incluindo crianças com diarreia, e concluíram que a lesão intestinal contribui significativamente para a associação de desnutrição nessas crianças.

Esse trabalho mostra, após demonstração da tendência à perda da integridade da mucosa intestinal em pacientes desnutridos ou que apresentem doença diarreica, que uma terapêutica adequada, como o uso da glutamina adicionada ao soro oral, poderá ajudar na recuperação da integridade da mucosa dessas crianças.

6.3 Terapia de Reidratação Oral com e sem adição de Glutamina

O fato de que solutos, do tipo glicose, aumenta a absorção de água e sódio da luz intestinal e que esse mecanismo permanece intacto nas doenças diarreicas, já se encontra bem estabelecido, constituindo-se na base científica da terapia de reidratação oral.

FISHER & PEARSON, 1953, observaram que a absorção de sódio no intestino de coelho era aumentada com a adição de glicose no lado luminal do epitélio. SCHULTZ & CURRAN, 1970, estudaram o cotransporte de sódio com glicose e outros substratos orgânicos no intestino delgado. HIRSCHHORN, 1980 e FINBERG e cols., 1982, demonstraram com sucesso o uso da solução de reidratação oral para a manutenção das perdas de fluido e eletrólitos em crianças desidratadas.

Já em 1990, uma nova solução de reidratação oral contendo glutamina passou a ser alvo de vários estudos *in vitro* e investigações clínicas preliminares. RHOADS e cols., 1990, determinaram os efeitos da glutamina no transporte intestinal de eletrólitos em jejuno de porcos montados em câmaras de Üssing. Demonstraram que a glutamina foi capaz de estimular a absorção eletroneutra de NaCl no intestino delgado. LIMA e cols., 1992, mostraram que a absorção de sódio em íleo de coelho, montado em câmaras de Üssing, foi mais eficaz na presença de glutamina ou alanina do que aquela observada para a glicose. Outro trabalho demonstrou que a solução oral à base de glutamina é mais efetiva do que a solução oral à base de glicose em porcos infectados com rotavírus ou *Cryptosporidium* spp (ARGENZIO e cols., 1994).

Estudos clínicos realizados na Indonésia, em pacientes com cólera, utilizando a solução de glutamina (90 mmol/l de glutamina e glicose) em comparação com a solução padrão da OMS, mostraram uma redução de 25% no

volume total de fezes durante todo o tratamento (WHO, 1990; PUNJABI e cols., 1991).

RIBEIRO e cols., 1994, estudaram uma solução de reidratação oral contendo 90 mmol/l de glutamina e 90 mmol/l de glicose, comparando com a solução padrão da OMS, no tratamento de lactentes de um mês a um ano de idade com diarreia aguda e desidratação. Demonstrou-se nesse estudo que a solução contendo glutamina foi bem tolerada e apresentou o mesmo efeito que a solução-padrão, utilizando como parâmetro principal o total de perdas fecais durante o tratamento.

O epitélio do intestino delgado é um dos tecidos de mais rápida proliferação do organismo, renovando-se a cada 3 a 8 dias. Sua homeostase é conseguida através do balanço da proliferação celular nas criptas e a eliminação celular via apoptose a qual ocorre tanto ao nível de criptas quanto de vilosidades. Várias condições podem influenciar a célula a iniciar o processo de apoptose, como a ocorrência de danos físicos ou de agentes químicos, condições que levem ao estresse celular, do tipo formação de radicais livres e a privação ou diminuição de glutamina. A glutamina pode, portanto prevenir a apoptose no intestino, constituindo-se numa fonte essencial de energia na manutenção do ATP celular (PAPACONSTANTINO e cols., 1998).

A glutamina desempenha um papel fundamental na fisiologia e metabolismo celular sendo considerado o maior constituinte das proteínas e peptídeos endógenos, exercendo uma importante função no balanço ácido-básico (ADDAE e cols., 1968). Tanto o intestino delgado quanto os rins têm se mostrado como os maiores utilizadores de glutamina sob condições normal ou de acidose (CERSOSIMO e cols., 1986).

Embora a glutamina seja considerado um aminoácido não essencial, é por sua vez considerado essencial na manutenção da homeostase intestinal. Durante estados de saúde e ingestão de alimentos em quantidade adequada, parece não

haver necessidade de suplementação de glutamina. Entretanto existem inúmeras condições, especialmente aquelas envolvendo estresse catabólico ou doenças intestinais, onde a suplementação de glutamina provou ser essencial (NEU e cols., 1999).

KLIMBERG e cols., 1990, demonstraram que o uso de glutamina oral após radiação abdominal em ratos, levou a uma melhora na morfometria da mucosa intestinal e diminuiu a morbidade e a mortalidade associada com esse modelo de radiação. FOX e cols., 1988, após administração de metotrexate intraperitoneal em ratos o qual resulta em severa enterocolite, verificaram haver diminuição do dano intestinal e da translocação bacteriana após o uso de glutamina por via intragástrica.

Embora poucos dados estejam disponíveis em humanos, em modelos animais a mucosa e a submucosa intestinais atrofiam rapidamente dentro de 24 horas de jejum. Desnutrição protéico-calórica, depleção protéica severa ou deficiências específicas de nutrientes dificultam a recuperação da mucosa intestinal e reparo após lesão. Alguns nutrientes surgiram então (por exemplo: glutamina e glicose) para se tornarem os principais substratos para as células intestinais (ZIEGLER e cols., 1999).

Estudos em modelos animais e estudos limitados em humanos sugerem que nutrientes específicos melhoram a estrutura e função do intestino delgado em estados de desnutrição, lesão ou adaptação após ressecção intestinal (SOUBA, 1993).

Um grande número de estudos vem demonstrando a eficácia da suplementação enteral e parenteral de glutamina em estados catabólicos (JONES e cols., 1999; ZIEGLER, 1996). Outros têm observado um aumento na altura das vilosidades e uma diminuição na permeabilidade intestinal em pacientes submetidos à nutrição parenteral total (VAN DER HULST, 1993), ou aumento

na absorção de D-xilose em pacientes críticos, indicando melhora na capacidade funcional do intestino delgado (TREMEL e cols., 1994).

Os resultados desse trabalho mostraram uma tendência à diminuição da lesão intestinal (melhora da integridade dessa mucosa) nas crianças após uso da solução com glutamina (SRO-Gln) em relação ao grupo controle (SRO-OMS), mostrada após realização do teste de Lactulose/Manitol (L/M) com tendência à diminuição da absorção de lactulose naquelas que usaram SRO-Gln. Quando comparamos a quantidade de manitol excretada em ambos os grupos, encontramos tendência à melhora da área absorptiva, a qual no grupo controle se mostrou em menor quantidade em relação ao grupo que utilizou solução oral com glutamina.

A Solução de Reidratação Oral da OMS foi inicialmente proposta para utilização em pacientes com cólera devido à grande perda de eletrólitos que ocorre nesta patologia, já a Sociedade Européia de Gastroenterologia Pediátrica e Nutrição (ESPGAN) recomenda o uso de soluções contendo quantidades inferiores de sódio para a prevenção da desidratação ou correção da mesma, em crianças eutróficas. A utilização de soluções de reidratação oral com adição de glutamina mostrou-se mais eficaz na absorção de sódio quando comparado com solução contendo glicose, em íleo de coelho montado em câmara de Üssing. Esse trabalho demonstra a eficácia da utilização de glutamina em soluções de reidratação oral em pacientes com diarréia persistente e desnutrição, recomendando a sua utilização nestes pacientes os quais apresentam alterações funcionais da mucosa intestinal com aumento da permeabilidade intestinal.

Estudos de medida de permeabilidade intestinal têm considerado a taxa de L/M como um parâmetro primário para o funcionamento normal das células epiteliais do intestino (BIJLSMA e cols., 1995; TRAVIS & MENZIES, 1992). A avaliação da permeabilidade intestinal pelo teste de L/M se mostrou apropriado

e sensível, quando comparamos o uso da SRO-OMS e da SRO-Gln em crianças desnutridas e com diarreia persistente.

Os resultados desse trabalho concordam com o de outros autores sobre a permeabilidade intestinal e o dano epitelial observado em crianças com diarreia e desnutrição protéico-calórica (FORD e cols., 1985; BEHRENS e cols., 1987).

6.4 Uso de soluções de reidratação oral com e sem glutamina e avaliação da função renal.

Investigações em animais têm demonstrado que a nutrição enteral ou parenteral acrescida de glutamina melhora o crescimento e a recuperação do intestino delgado e da mucosa colônica e atenua a atrofia pancreática, a esteatose hepática e a perda da função imune intestinal (SOUBA e cols., 1985; FOX e cols., 1988; BURKE e cols., 1989).

Esses estudos sugerem que a glutamina tem um papel importante como nutriente essencial durante estados severos de doença. ZIEGLER e cols., 1990, conduziram um estudo para avaliação da segurança clínica, farmacocinética e efeitos metabólicos da glutamina administrada por via parenteral em humanos durante cinco dias. Nenhuma mudança significativa na amônia circulante ou nos níveis de glutamato (metabólitos da glutamina) foi observada. A excreção urinária de creatinina, amônia, uréia e nitrogênio total foi semelhante tanto no grupo que recebeu glutamina em doses menores quanto no grupo que utilizou uma maior quantidade de glutamina.

JIANG e cols., 1999, avaliaram o impacto da alanyl glutamina (Ala-Gln) adicionada à nutrição parenteral, na segurança clínica, balanço nitrogenado, permeabilidade intestinal e resultados clínicos de pacientes de pós-operatório. Concluíram que a adição de Ala-Gln à solução de nutrição parenteral foi clinicamente segura, teve melhor balanço nitrogenado e manteve a

permeabilidade intestinal nesses pacientes. Os parâmetros de segurança utilizados foram: sinais vitais, função hepática e renal, lipídeos séricos e reações adversas sistêmicas.

BURRIN e cols., 1994, utilizando nutrição parenteral adicionada de glutamina em porcos recém-nascidos encontraram um aumento na concentração plasmática de glutamina, nitrogênio ureico, amônia, na altura vilositária jejunal e na área de superfície, porém nenhuma evidência histológica de toxicidade tecidual foi encontrada.

Existe um temor quando da infusão de glutamina, porque a mesma está relacionada com o metabolismo e formação de amônia. Entretanto, pequenas elevações na amônia sérica encontrada por BURRIN e cols., (1994) não estavam associados com nenhum efeito adverso substancial.

O glutamato, que é resultante do metabolismo da glutamina, está diretamente relacionado com o neurotransmissor ácido γ -amino-butírico, porém nenhuma toxicidade foi detectada para o sistema nervoso central (SOUBA e cols., 1990).

Nesse estudo foi avaliada a função renal de todos os pacientes selecionados com a dosagem sérica de uréia e creatinina antes do início da ingestão de SRO com e sem glutamina e após o término dessa ingestão. Foi observado que não houve alterações nos níveis séricos de uréia e creatinina em nenhum paciente de ambos os grupos, demonstrando, nesse estudo, não haver possível toxicidade renal com o uso de glutamina.

Houve ganho ponderal significativo nas crianças que utilizaram a SRO-Gln com relação àquelas que utilizaram a SRO-OMS, demonstrando que o acréscimo da glutamina nestas soluções pode influenciar de forma importante na recuperação do peso de crianças desnutridas.

Após todas essas avaliações realizadas, postulamos que a glutamina desempenha um papel importante na prevenção e recuperação da lesão

intestinal, se mostrando como uma opção na quebra do ciclo vicioso desnutrição-diarreia-desnutrição.

7 CONCLUSÕES

7. CONCLUSÕES

7.1 Esse estudo demonstrou que a glutamina não apresentou toxicidade renal quando adicionada à solução de reidratação oral.

7.2 O tratamento com glutamina, adicionada à solução de reidratação oral de crianças com diarreia persistente e desnutrição provavelmente favorece a uma rápida recuperação da lesão intestinal e da alteração de permeabilidade intestinal.

7.3 A solução de reidratação oral à base de glutamina mostrou-se eficaz no ganho de peso de crianças com diarreia persistente e desnutrição.

8 REFERÊNCIAS

8. REFERÊNCIAS

ADDAE, S.K., LOTSPEICH, W.P. Relation between glutamine utilization and production in metabolic acidosis. **Am. J. Physiol.** 215: 269-277, 1968.

AHMED, A., TAYLOR, P.M., RENNIE, M.J. Characteristics of glutamine transport in rat sarcolemmal vesicles from rat skeletal muscle. **Am. J. Physiol.** 259:E284-289, 1990.

ANDRADE, J.A.B., MOREIRA, C., FAGUNDES-NETO, U. Diarréia Persistente. **J. Pediatr.** 76:S119-S124, 2000.

ANDRE, F., ANDRE, C., EMMERY, Y. et al. Assessment of the lactulose-mannitol test in Crohn's disease. **Gut.** 29:511-515, 1988.

ARGENZIO, R.H., RHOADS, J.M., ARMSTRONG M.M., GOMEZ, G. Glutamine Stimulates prostaglandin-sensitive NA^+-H^+ exchange in experimental porcine cryptosporidiosis. **Gastroenterology.** 106:1418-1428, 1994.

ASHWORTH, A. Catch-up Growth in Children. **Nutrition Reviews.** 44(5):157-159, 1986.

BAO, YONGDE, SILVA, TERESINHA M.J., GUERRANT, R.L., LIMA, A.A.M., FOX, J.W. Direct analysis of mannitol, lactulose and glucose in urine samples by high-performance anion-exchange chromatography with pulse amperometric detection. Clinical evaluation of intestinal permeability in human immunodeficiency virus infection. **J. Chromatogr.** 605: 105-112, 1996.

BARBOZA Jr., M.S., SILVA, T.M.J., GUERRANT, R.L., LIMA, A.A.M. Measurement of intestinal permeability using mannitol and lactulose in children with diarrheal diseases. **Braz. J. Biol. Res.** 32:1499-1504, 1999.

BEHRENS, R., DOCHERTY, H., ELIA, M., NEALE, G. A simple enzymatic assay for urinary lactulose. **Clin. Chim. Acta.** 134:361-367, 1983.

BEHRENS, R., LUNN, P.G., NORTHROP, C.A., et al. Factors affecting the integrity of the intestinal mucosa of Gambian children. **Am. J. Clin. Nutr.** 45:1433-1441, 1987.

BHAN, M. K., BHANDARI, N. The Role of Zinc and Vitamin A in Persistent Diarrhea Among Infants and Young Children. **J. Pediatric Gastroenterol. Nutr.** 26:446-453, 1998.

BHAN, M.K., MAHALANABIS, D., FONTAINE, O., PIERCE, N.F. Clinical trials of improved oral rehydration salt formulation: a review. **Bull. World Health Org.** 72:945-955, 1994.

BHANDARI, N., BHAN, M.K., SAZAWAL, S. et al. Association of antecedent malnutrition with persistent diarrhea: a case control study. **Br. Med. J.** 298:1284-1287, 1989.

BIJLSMA, P.B., PEETERS, R.A., GROOT, J., DEKKER, P.R., TAMINIAU, J.A.J.M. Differential *in vivo* and *in vitro* intestinal permeability to lactulose and mannitol in animals and humans: a hypothesis. **Gastroenterology.** 108:687-696, 1995.

BJARNASON, I., O' MORAUN, C., LEVI, A.J., PETERS, T.J. Absorption of Cr-labeled ethylenediaminetetra-acetate in inflammatory bowel disease. **Gastroenterology**. 85:318-322, 1983.

BJERKNES, M., CHENG, H. Clonal Analysis of Mouse Intestinal Epithelial Progenitors. **Gastroenterology**. 116:7-14,1999.

BREWSTER, D.R., MANARY, M.J., MENZIES, I.S., HENRY, R.L., O'LOUGHLIN, E.V. Comparison of milk and maize based diets in kwashiokor. **Arch. Disease in Childhood**. 76:242-248, 1997.

BREWSTER, D.R., MANARY, M.J., MENZIES, I.S., LOUGHLIN, E.V., HENRY, R.L. Intestinal permeability in kwashiokor. **Arch. Disease in Childhood**. 76:236-241, 1997.

BURKE, D.J., ALVERDY, J.C., AOYS, E., MOSS, G.S. Glutamine-Supplemented Total Parenteral Nutrition Improves Gut Immune Function. **Arch. Surg**. 124:1396-1399, 1989.

BURRIN, D.G., SHULMAN, R.J., LANGSTON, C., STORM, M.C. Supplemental Alanylglutamine, Organ Growth, and Nitrogen Metabolism in Neonatal Pigs Fed by Total Parenteral Nutrition. **J. Parent. Enteral Nutr.** 18:313-319, 1994).

CEREIJIDO, M., PONCE, A., GONZALEZ-MARISCAL, L. Tight junctions and apical/basolateral polarity. **J. Membr. Biol.** 110:1-9, 1988.

CERSOSIMO, E., WILLIAMS, P.E., RADOSEVICH, P.M., HOXWORTH, B.T., LACY, W.W., ABUMRAD, N.N. Role of glutamine in adaptations in nitrogen metabolism during fasting. **Am. J. Physiol.** 250:E622-E628, 1986.

CHADWICK, V.S., PHILLIPS, S.F., HOFFMAN, A.F. Measurement of intestinal permeability using low molecular weight polyethylene glycols. **Gastroenterology.** 73:241-51, 1977.

CHRISTENSEN, H.N. Role of amino acid transport and countertransport in nutrition and metabolism. **Phys. Rev.** 70:43-77, 1990.

CITI, S., SABANAY, H., JAKES, R., GEIGER, B., KENDRICK, J. Cingulin, a peripheral component of tight junctions. **Nature.** 333:272-276, 1988.

CLAESON, M., MERSON, M.H. Global progress in the control of diarrheal diseases. **Pediatr. Infect. Dis. J.** 9:345-355, 1990.

CLARKSON, T.W. The transport of salt and water across isolated rat ileum. **J. Gen. Physiol.** 50:695-727, 1967.

COBDEN, I., DICKINSON, R.I., ROTHWELL, J., AXON, A.T.R. Intestinal permeability assessed by excretion ratios of two molecules: results in celiac disease. **Br. Med. J.** i:1060, 1978.

COSTA, S.M., GOMES, T.A.T., HAAPALEIN, E., FAGUNDES NETO, U. Microscopia Eletrônica de Varredura do Intestino Delgado na Diarréia Persistente. **Arq. Gastroenterol.** 34:112-120, 1997.

COUTINHO, S.B., LIMA, M.C., TEIXEIRA, M.L.P.D., CAMPOS, M.A., NASCIMENTO, C.C.B., SANTOS, B.J. Influência do Tipo de Aleitamento Sobre o Ganho Pondo-Estatural de Crianças no primeiro Ano de Vida. **J. Pediatr.** 64(3):75-82, 1988.

EAGLE, H., OYAMA, V.I., LEVY, M. et al: The growth response of mammalian cells in tissue culture to L-glutamine and L-glutamic acid. **J. Biol. Chem.** 218:607-617, 1955.

EL-MOUGI, M., EL-AKKAD, A., et al. Is a Low-Osmolarity ORS Solution More Efficacious Than Standard WHO ORS Solution? **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.** 19:83-86, 1994.

FAGUNDES NETO, U., WHEBA, J.U., VIARO, T. Diarréia Protraída - Alterações ultra-estruturais do intestino delgado. **J. Pediatr.** 56:112-116, 1984.

FANG, G.D., LIMA, A.A.M., MARTINS, C.V., NATARO, J.P., GUERRANT, R.L. Etiology and Epidemiology of Persistent Diarrhea in Northeastern Brazil: A Hospital-Based, Prospective, Case-Control Study. **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.** 21:137-144, 1995.

FAWZI, W.W., HERRERA, M.G., SPIEGELMAN, D.L., AMIN, A.E., NESTEL, P., MOHAMED, K.A. A prospective study of malnutrition in relation to child mortality in the Sudan. **Am. J. Clin. Nutr.** 65:1062-1069, 1997.

FERREIRA, R.M.C.C. Optimising Oral Rehydration Solution Composition for the Children of Europe: Clinical Trials. **Acta Paediatr. Scand. Suppl.** 364:40-50, 1989.

FINBERG, L., HARPER, P.A., HARRISON, H.E., SACK, B. Oral rehydration for diarrhea. **J. Pediatr.** 101:497-499, 1982.

FISHER, R.B., PEARSONS, D.S. Glucose movement across the wall of the rat small intestine. **J. Physiol.** 119:210-223, 1953.

FORD, R.P.K., MENZIES, I.S., PHILLIPIS, A.D., et al. Intestinal sugar permeability: relationship to diarrhoeal disease and small bowel morphology. **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.** 4:568-574, 1985.

FORDTRAN, J.S., RECTOR, F.C., EWTON, M.F., SOTER, N., KINNEY, J. Permeability characteristics of the human small intestine. **J. Clin. Invest.** 44:1935-1944, 1965.

FOX, A.D., KRIPKE, S.A., DE PAULA, J., BERMAN, J.M., SETTLE, R.G., ROMBEAU, J.L. Effect of a Glutamine-Supplemented Enteral Diet on Methotrexate-Induced Enterocolitis. **J. Parenter. Enteral Nutr.** 12:325-331, 1988.

GEBHARDT, R., KLEEMANN, E. Hormonal regulation of aminoacid transport system N in primary cultures of rat hepatocytes. **Eur. J. Biochem.** 16:339-344, 1987.

GOLDEN, M.H.N. **Severe malnutrition. Oxford Textbook of Medicine.** Chapter 10:1278-1295, 1996.

GOODGAME, R.W., KIMBALL, K. OU C.N., et al. Intestinal function and injury in acquired immunodeficiency syndrome-related cryptosporidiosis. **Gastroenterology**. 108:1075-1082, 1995.

GORDON, J.I. Intestinal epithelial differentiation: New insights from chimeric and transgenic mice. **J. Cell. Biol.** 108:1187, 1989.

GOULART, E.M.A. A avaliação nutricional infantil no software EPI INFO (versão 6.0), considerando-se a abordagem coletiva e a individual, o grau e o tipo da desnutrição. **J. Pediatr.** 73(4):225-230, 1997.

GRYBOSKI, J.D., THAYER, W.R., GABRIELSON, I.W., SPIRO, H.M. Disacchariduria in gastrointestinal disease. **Gastroenterology**. 45:633-637, 1963.

GUERRANT, R.L., SCHORLING, J.B., McAULIFFE, J.F., et. al. Diarrhea as a cause and an effect of malnutrition: diarrhea prevents catch-up growth and malnutrition increases diarrhea frequency and duration. **Am J. Trop. Med. Hyg.** 47:28-35, 1992.

GUSMÃO, R.H.P., MARTINS, M.C.V., GUSMÃO, S.R.B., FAGUNDES NETO, U. Enteropatia ambiental: estudo ultra-estrutural da mucosa jejunal de crianças assintomáticas. **J. Pediatr.** 69:21-26, 1993.

GUZMAN, G., BONSACK, M., LIBERTY, J., et al. Abdominal Radiation causes bacterial translocation. **J. Surg. Res.** 46:104, 1989.

HAQUE, S.M.M., CHEN, K., USUI, N., LIBOSHI, Y., et al. Alanyl-Glutamine Dipeptide-Supplemented Parenteral Nutrition Improves Intestinal Metabolism and Prevents Increased Permeability in Rats. **Ann. surgery.** 223:334-341, 1996.

HERSKOWITZ, K., BODE, B.P., BLOCK, E.R., et. al. Characterization of L-glutamine transport by pulmonary artery endothelial cells. **Am. J. Physiol.** 360:L41-L246, 1991.

HIRSCHHORN, N. The treatment of acute diarrhea in children: an historical and physiological perspective. **Am. J. Clin. Nutr.** 33:637-663, 1980.

HWANG, T.L., O'DWYER, S.T., SMITH, R.J., et al. Preservation of small bowel mucosa using glutamine-enriched parenteral nutrition. **Surg. Forum.** 38:56, 1987.

INTERNATIONAL STUDY GROUP ON REDUCED OSMOLARITY ORS SOLUTIONS. Multi-center evaluation of reduced osmolarity oral rehydration solution. **Lancet.** 345:282-5, 1995.

JIANG, Z.M., CAO, J.D., ZHU, X.G., ZHAO, W.X., YU, J.C., et al. The Impact of Alanyl-Glutamine on Clinical Safety, Nitrogen Balance, Intestinal Permeability, and Clinical Outcome in Postoperative Patients: A Randomized, Double-Blind, controlled study of 120 Patients. **J. Parenter. Enteral Nutr.** 23:S62-S66, 1999.

JOHNSON, R.J. **Gastrointestinal Physiology: Fluid and Electrolyte Absorption.** Fifth Edition. Mosby, 1997. Chapter 12:135-145.

JONES, C., PALMER, T.E., GRIFFITHS, R.D. Randomized clinical outcome study of critically ill patients given glutamine-supplemented enteral nutrition. **Nutrition**. 15:108-115, 1999.

JUBY, L.D., ROTHWELL, J., AXON, A.T.R. Lactulose/mannitol test: an ideal agree test for celiac disease. **Gastroenterology**. 96:79-85, 1989.

KHALDI, F., MANSSOUR, A.B., NACEUR, B.B. Caractéristiques de la diarrhée persistante dans un service de pédiatrie à Tunis. **Arch. Pediatr**. 2:227-231, 1995.

KILBERG, M.S., HANDLOGTEN, M.E., CHRISTENSEN, H.N. Characteristics of an amino acid transport system in rat liver for glutamine, asparagine, histidine, and closely related analogs. **J. Biol. Chem**. 355:4011-4019, 1980.

KINLOCH, R.A., TREHERNE, J.M., FURNESS, L.M., HAJIMOHAMADREZA, I. The pharmacology of apoptosis. **TiPS**. Vol. 20, 1999.

KLIMBERG, V.S., SOUBA, W.W., SITREN, H., et al. Glutamine-enriched total parenteral nutrition supports gut metabolism. **Surg. Forum**. 40:175-177, 1989.

KLIMBERG, V.S., SALLOUM, R.M., KASPER, M. e cols. Oral Glutamine Accelerates Healing of the Small Intestine and Improves Outcome After Whole Abdominal Radiation. **Arch. Surg**. 125:1040-1045, 1990.

KLIMBERG, V.S., SALLOUM, R.M., KASPER, M., PLUMLEY, D.A., DOLSON, D.J. et al. Oral Glutamine Accelerates Healing of the Small Intestine and Improves Outcome After Whole Abdominal Radiation. **Arch. Surg.** 125:1040-1045, 1990.

KONG, S., HEEL, K., McCAULEY, R., HALL, J. The Role of Enterocytes in Gut Dysfunction. **Pathol. Resear. Practice.**194:741-751, 1998.

LANATA, C.F., BLACK, R.E., GILMAN, R.H., LAZO, F., DEL AGUILA, R. Epidemiologic clinical and laboratory characteristics of acute vs persistent diarrhea in periurban Lima, Peru. **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.**12:82-88, 1991.

LIMA, A.A.M., SOARES, A.M., FREIRE JR, J.E., GUERRANT, R.L. Cotransport of Sodium With Glutamine, Alanine, And Glucose In The Isolated Rabbit Ileal Mucosa. **Brazilian J. Med. Biol. Res.** 25:637-640, 1992.

LIMA, A.A.M., FANG, G., SCHORLING, J.B., ALBUQUERQUE, L., McAULIFFE, J.F., MOTA, S., LEITE, R., GUERRANT, R.L. Persistent diarrhea in Northeast Brazil: etiologies and interactions with malnutrition. **Acta Paediatrica. Suppl.** 381:39-44, 1992.

LIMA, A.A.M., GUERRANT, R.L. Persistent Diarrhea in Children: Epidemiology, Risk factors, Pathophysiology, Nutritional Impact, and Management. **Epidemiolog. Reviews.** 14:222-242, 1992.

LIMA, A.A.M., SILVA, T.M.J., GIFONI, A.M.R., BARRETT, L.J., McAULIFFE, I.T., BAO, Y., FOX, J.W. FEDORKO, D.P., GUERRANT, R.L. Mucosal Injury and disruption of Intestinal Barrier Function in HIV-Infected Individuals with and without Diarrhea and Cryptosporidiosis in Northeast Brazil. **American J. Gastroenterology**. 92:1861-1866, 1997.

LIMA, A.A.M. Glutamina e Alanil-Glutamil-Glutamina: Síntese Química, Impacto no Transporte de Água, Eletrólitos e permeabilidade Intestinal. Fortaleza, 1998. Tese de titular em Farmacologia. Dept^o de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal do Ceará.

LIMA, A.A.M., MOORE, S.R., BARBOZA JR., M.S., SOARES, A.M., SCHLEUPNER, M.A., NEWMAN, R.D., SEARS, C.L., NATARO, J.P., FEDORKO, D.P., WUHIB, T., SCHORLING, J.B., GUERRANT, R.L. Persistent Diarrhea Signals a Critical Period of Increased Diarrhea Burdens and Nutritional Shortfalls: A Prospective Cohort Study among Children in Northeastern Brazil. **J. Infect. Diseases**. 181:1643-51, 2000.

LINDER-HOROWITZ, M., KNOX, W.E., MORRIS, H.P. Glutaminase activities and growth rates of rat hepatomas. **Cancer Res**. 29:1195-1199, 1969.

LINS, M.G.M., SILVA, P.P. Doença diarreica em crianças hospitalizadas - importância da diarreia persistente. **J. Pediatr**. 76:37-43, 2000.

LOWE, D.L., BENFELL, K., SMITH, R.J., et al. Glutamine enriched total parenteral nutrition is safe in normal humans. **Surg. Forum**. 40:9-11, 1989.

MADARA, J.L. Intestinal absorptive cell tight junctions are linked to the cytoskeleton. **Am. J. Physiol.** 253:C171-C175, 1987.

MAILLIARD, M.E., STEVENS, B.R., MANN, G.E. Amino Acid Transport by Small Intestinal, Hepatic, and Pancreatic Epithelia. **Gastroenterology.** 108:888-910, 1995.

MARTINS, M.C.V., LIMA, F.M.L.S., PATRÍCIO, F.R.S., TOLEDO, M.R.F., MACHADO, N.L., FAGUNDES NETO, U. Enteropatia Ambiental Assintomática: Alterações Funcionais e Morfológicas na Mucosa Jejunal Decorrentes do Ambiente Desfavorável. **J. Pediatr.** 67:87-91, 1991.

McNEIL, P.L., ITO, S. Gastrointestinal cell plasma membrane wounding and resealing *in vivo*. **Gastroenterology.** 96:1238-1248, 1989.

MENZIES, I, S., LAKER, M.F., POUNDER, R.E., et al. Abnormal Intestinal Permeability to sugars in villous atrophy. **Lancet.** Ii:1107-1109, 1979.

MENZIES, I.S. Transmucosal passage of inert molecules in health and disease. In: Skadhauge, E. & Heintze, K., Eds. Intestinal absorption and secretion. Falk Symposium 36. Lancaster: MTP Press Ltda, 527-543, 1983.

Ministério da Saúde. Metas governamentais para o ano 2000. Brasília: Ministério da Saúde, 1996.

MOCHIZUKI, H., TROCKI, O., DOMINIONI, L., et al. Mechanism of prevention of postburn hypermetabolism and catabolism by early enteral feeding. **Ann. Surg.** 200(3):297, 1984.

MONTE, C.M.G. Desnutrição: um desafio secular à nutrição infantil. **J. Pediatr.** 76:S285-S297, 2000.

MOORE, R., CARLSON, S., MADARA, J.L. Villous contraction aids repair of intestinal epithelium after injury. **Am. J. Physiol.** 357:G274-G283, 1989.

NAFTALIN, R.J., TRIPATHI, S. Passive water flows draw across rabbit ileum by osmotic, hydrostatic and electrical gradients. **J. Physiol.** 360:27-50, 1985.

NATH, S.K., DECHELOTTE, P., DARMAUN, D., et al. $\{^{15}\text{n}\}$ and $\{^{14}\text{C}\}$ glutamine fluxes across rabbit ileum in experimental diarrhea. **Am. J. Physiol.** 262:G312-G318, 1992.

NEU, J., DeMARCO, V., WEISS, M. Glutamine Supplementation in Low-Birth-Weight Infants: Mechanisms of Action. **J. Parenter. Enteral Nutr.** 23:S49-S51, 1999.

OMS (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE). **Manejo da desnutrição grave:** Um manual para profissionais de saúde de nível superior (médicos, enfermeiros, nutricionistas, e outros) e suas equipes auxiliares/Organização Mundial de Saúde.- Brasília: Organização Pan-americana da Saúde / Representação do Brasil, 2000.

PAPACONSTANTINO, H.T., HWANG, K.O., et al. Glutamine deprivation induces apoptosis in intestinal epithelial cells. **Surgery.** 124:152-60, 1998.

PEARSON, A.D.J., EASTHAM, E.J., LAKER, M.F., CRAFT, A.W., NELSON, R. Intestinal permeability in children with Crohn's disease and ulcerative colitis. **Br. Med. J.** 285:20-21, 1982.

PELLETIER, D.L. Potentiating effects of malnutrition on child mortality: epidemiologic evidence and policy implications. **Food Nutr. Bull.** 16:206-13, 1995.

PELLETIER, D.L., FRONGILLO, E.A., SCHROEDER, D.G., HABICHT, J.P. The effects of malnutrition on child mortality in developing countries. **Bull. World Health Organization.** 73(4):443-448, 1995.

PINKUS, L.M., WINDMUELLER, H.G. Phosphate-dependent glutaminase of small intestine and localization and role in intestinal glutamine metabolism. **Arch. Biochem. Biophys.** 182:506-517, 1977.

PINTO, E.A.L.C., BARROS-FILHO. A.A., BARROS M.B.A. Fatores de risco para diarreia persistente em crianças hospitalizadas. **Arq. Gastroenterol.** 35: 126-31, 1998.

PUNJABI, N.H., KUMULA, S., RASIDI, C., et al. Glutamine supplemented ORS is superior to standard citrate glucose ORS for maintenance therapy of adult cholera patients in Jakarta (abstract). **Am. J. Trop. Med. Hyg.** 45(Suppl.):114, 1991.

RAUTANEN, T., EL-RADHI, S., VESIKARI, T. Clinical experience with a hypotonic oral rehydration solution in acute diarrhea. **Acta Paediatric.** 82:52-54, 1993.

RHOADS, J.M., KEKU, E.O, BENNETT, L.E., QUINN, J., LECCE, J.G. Development of L-glutamine-stimulated electroneutral sodium absorption in piglet jejunum. **Am. J. Physiol.** 259:G99-G107, 1990.

RIBEIRO, H.J.R., RIBEIRO, T., MATTOS, A, et al. Treatment of acute diarrhea with oral rehydration solutions containing glutamine. **J. Am. Coll. Nutr.** 13:251-5, 1994.

SAID, H.M., Van VOORHIS, K., GHISHAN, F.K., et. al. Transport characteristics of glutamine in human intestinal brush-border membrane vesicles. **Am. J. Physiol.** 256:G240-G45, 1989.

SANTOSHAM, M., FAYAD, I., ZIKRI, M.A., HUSSEIN, A. et al. A double blind clinical trial comparing World Health Organization oral rehydration solution with a reduced osmolarity solution containing equal amounts of sodium and glucose. **J. Pediatrics.** 128:45-51, 1996.

SAWAMURA, R., FERNANDES, M. I. M., TRONCON, LUIZ E. A., IAZIGI, N. Aumento da Permeabilidade Intestinal ao ^{51}Cr -EDTA em Crianças com Diarréia Persistente. **Arq. Gastroenterol.** 34:55-61, 1997.

SCHAERER, E., NEUTRA, M.R., KRAEHENBUHL, J.P. Molecular and celular mechanisms involved in transepithelial transport. **J. Membr. Biol.** 123:93-103, 1991.

SCHMITZ, B.A.S., PICANÇO, M.R., AQUINO, K.K.N.C., BASTOS, J., GIORGINI, E., CARDOSO, R., BRAGA, J.A.P., FISBERG, M. Prevalência de

Desnutrição e anemia em pré-escolares de Brasília - Brasil. **Pediatria Moderna.** 34:155-164, 1998.

SCHORLING, J.B., McAULIFFE, J.F., SOUSA, M.A., et. al. Malnutrition is associated with increased diarrhea incidence and duration among children in an urban Brazilian slum. **Int. J. Epidemiol.** 19:728-35, 1990.

SCHORLING, J.B., WANKE, C.A., SCHORLING, S.K., et. al. A prospective study of persistent diarrhea among children in an urban Brazilian slum: patterns of occurrence and etiologic agents. **Am. J. Epidemiol.** 132:144-156, 1990.

SCHULTZ, S.G., CURRAN, P.F. Coupled transport of sodium and organic solutes. **Physiol. Rev.** 50:637:718, 1970.

SILVA, A.C., SANTOS-NETO, M.S., SOARES, A.M., FONTELES, M.C., GUERRANT, R.L., LIMA, A.A.M. Efficacy of a Glutamine-Based Oral Rehydration Solution on the Electrolyte and Water Absorption in a Rabbit Model of Secretory Diarrhea Induced by Cholera Toxin. **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.** 26:513-519, 1998.

SMITH, M.D. Glutamine Metabolism and Its Physiologic Importance. **J. Parenter. Enteral Nutr.** 14:40S-44S, 1990.

SODEMANN, M., JAKOBSEN, M.S., MOLBAK, K., MARTINS, C., AABY, P. Episode-specific risk factors for progression of acute diarrhea to persistent diarrhea in West African children. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.** 93: 65-8, 1999.

SOUBA, W.W., SMITH, R.J., WILMORE, D.W. Glutamine metabolism by intestinal tract. **J. Parenter. Enteral Nutr.** 9:608-617, 1985.

SOUBA, W.W., HERSKOWITZ, K., AUSTGEN, T.R., CHEN, M.K., SALLOUM, R.M. Glutamine Nutrition: Theoretical Considerations and Therapeutic Impact. **J. Parenter. Enteral Nutr.** 14:237S-243S, 1990.

SOUBA, W.W., KLIMBERG, S., PLUMLEY, D.A., SALLOUM, R.M., FLYNN, T.C., BLAND, K.I., COPELAND, E.M. The Role of Glutamine in Maintaining a Healthy Gut and Supporting the Metabolic Response to Injury and Infection. **J. Surg. Resear.** 48:383-391, 1990.

SOUBA, W.W., COPELAND, E.M. Cytokine modulation sodium-dependent glutamine transport across the brush border membrane of monolayers of human intestinal Caco-2 cells. **Ann. Surg.** 215:536-545, 1992.

SOUBA, W.W. Intestinal glutamine metabolism and nutrition. **J. Nutr. Biochem.** 4:2-9, 1993.

STEHLE, P., MERTAS, N., ALBERS, S., et al. Effect of parenteral glutamine peptide supplements on muscle glutamine loss and nitrogen balance after major surgery. **Lancet** i:231-233, 1989.

STEVENS, B.R., WRIGHT, S.H., HIRAYANA, B.S., et. al. Organic and inorganic solute transport in renal and intestinal membrane vesicles preserved in liquid nitrogen. **Membr. Biochem.** 4:271-281, 1982.

STEVENS, B.R., KAUNOTZ, J., WRIGHT, E.M. Intestinal transport of amino acids and sugars; advances using membrane vesicles. **Ann. Ver. Physiol.** 417:417-433, 1984.

STEVENS, B.R., WRIGHT, E.M. Kinetics of the intestinal brush border proline (Imino) carrier. **J. Biol. Chem.** 262:6546-6551, 1987.

STEVENS, B.R. Vertebrate intestine apical membrane mechanisms of organic nutrient transport. **Symposium on comparative intestinal transport at the fall meeting of the American Physiological Society - Orlando-Fl.** 1990.

STEVENSON, B.R., SICILIANO, J.D., MOOSEKER, M.S., GOODENOUGH, D.A. Identification of ZO-1: a high molecular weight polypeptide associated with the tight junction (zonula occludens) in variety of epithelia. **J. Cell. Biol.** 103:755-766, 1986.

SUNG-EUN KONG, K.H., McCAULEY, R., HALL, J. The role of Enterocytes in Gut Dysfunction. **Pathol. Res. Pract.** 194:741-751, 1998.

TRAVIS, S., MENZIES, I. Intestinal permeability: functional assessment and significance. **Clin. Sci.** 82:471-488, 1992.

TREMEL, H., KIENLE, B., WEILEMANN, L.S. et al. Glutamine dipeptide supplemented TPN maintains intestinal function in the critically ill. **Gastroenterology.** 107:1595-1601, 1994.

TRUONG-TRAN, A.Q., HO, L.H., CHAI, F., ZALEWSKI, P.D. Cellular Zinc Fluxes and the Regulation of Apoptosis/Gene-Directed Cell Death. **J. Nutr.** 130:1459S-1466S, 2000.

UKABAM, S.O., COOPER, B.T. Small intestinal permeability to mannitol, lactulose and polyethylene glycol 400 in celiac disease. **Dig. Dis. Sci.** 29:809-816, 1984.

VAN DER HULST, R.R.W. e cols. Glutamine and the preservation of gut integrity. **Lancet.** 341:1363-1365, 1993.

VERKMAN, A.S. Mechanisms and regulation of water permeability in renal epithelia. **Am. J. Physiol.** 257:C837-C850, 1989.

VICTORA, C.G., HUTTLY, S.R., FUCHS, S.C., NOBRE, L.C., BARROS, F.C. Deaths due to dysentery, acute and persistent diarrhea among brazilian infants. **Acta Paediatr. Suppl.** 381:12-14, 1992.

WALKER, W.A., ISSELBACHER, K.J. Uptake and transport of macromolecules by the intestine: possible role in clinical disorders. **Gastroenterology.** 67:531-550, 1974.

WATERLOW, J.C. Protein-energy malnutrition: the nature and extent of the problem. **Clin. Nut.** 16:3-9, 1997.

WESER, E., SLEISENGER, M.H. Lactosuria and lactase deficiency in adult celiac disease. **Gastroenterology.** 48:571-578, 1965.

WHEELER, P.G., MENZIES, I.S., CREMER, B. Effect of hyperosmolar stimuli and celiac disease on the permeability of the human gastrointestinal tract. **Clin. Sci. Mol. Med.** 54:,495-501, 1978.

WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION), Working Group. Use and interpretation of anthropometric indicators of nutritional status. **Bull. World Health Organization.** 64:929-41, 1986.

WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION), Working Group on Infant Growth. An evaluation of infant growth: the use and interpretation of antropometry in infants. **Bull. World Health Organization.** 73(2) 165-174, 1995.

WHO. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO Expert Commitee. **WHO Technical Report Series 854.** Geneva: World Health Organization, 1995.

WHO. **The world health report 1995: Bridging the Gaps.** Geneva: World Health Organization, 1995.

WINDMUELLER, H.G. Glutamine utilization by the small intestine. **Adv. Enzymol.** 53:202, 1982.

World Health Organization. Program for control of Diarrhea Disease. WHO Interim Programme Report. Geneva: **World Health Organization, CDD;** 91:36, 1990.

ZIEGLER, T.R., BENFELL, K., SMITH, R.J., YOUNG, L.S., et. al. Safety and Metabolic Effects of L-Glutamine Administration in Humans. **J. Parenter. Enteral Nutr.** 14:137S-146S, 1990.

ZIEGLER, T.R. Glutamine supplementation in catabolic illness. **Am. J. Clin. Nutr.** 64:645-647, 1996.

ZIEGLER, T. R., ESTIVARÍZ, C. F., JONAS, C. R., GU, L. H., JONES, D. P., LEADER, L. M. Interactions Between Nutrients, and Peptide Growth Factors in Intestinal Growth, Repair, and Function. **J. Parenter. Enteral Nutr.** 23:S174-S183, 1999.

9 ANEXOS

9. ANEXOS

9.1 Ficha de Consentimento

UNIDADE DE PESQUISAS CLÍNICAS HUWC

Consentimento para participar num estudo duplo-cego comparativo da solução de reidratação oral com adição de glutamina e da solução de reidratação oral com glicose em crianças com desnutrição e diarreia persistente no Hospital Infantil Albert Sabin.

Nós convidamos seu filho(a) _____, que foi diagnosticado pelo médico como tendo desnutrição ou diarreia persistente, a participar num projeto para avaliar a eficácia e ganho nutricional com a solução de reidratação oral (SRO) baseada na glutamina e a SRO padrão (OMS). Recentemente a solução de reidratação oral com glutamina tem sido usada para cólera e outros tipos de diarreia, podendo melhorar a diarreia persistente.

Enquanto seu (sua) filho(a) estiver hospitalizado, manteremos registros cuidadosos da quantidade de SRO que ele(a) tomar e o total de fezes e urina. Gostaríamos também de colher amostra de fezes para exame e ainda fazer avaliação do seu estado nutricional com medidas de seu peso, estatura e circunferência braquial. Gostaríamos também de colher amostras de sangue para realização de hemograma e dosagem de uréia e creatinina e coletar urina por cinco horas para testar absorção de açúcares após uso da solução de lactulose e manitol por via oral.

A adição de glutamina na SRO tem o benefício potencial de prover uma melhor nutrição e rápida recuperação com riscos insignificantes. O tratamento alternativo é a solução padrão de reidratação oral recomendada pela Organização Mundial de Saúde. O prontuário da sua criança será guardado com confidência da sua identidade pessoal. Em caso de dúvida contactar o Dr. Aldo Ângelo Moreira Lima, Unidade de Pesquisas clínicas, HUWC, Faculdade de Medicina, UFC, tel. 223.6982.

Você poderá deixar o estudo em qualquer época que desejar apenas comunicando ao seu médico ou enfermeira encarregada pelo estudo.

Tem alguma dúvida?

Ass. do participante

Ass. do membro do estudo

Ass. da testemunha

Data: ----/----/----

9.2 Questionário Individual

UPC - Divisão de Doenças Infecciosas – HUWC/UFC
Hospital Infantil Albert Sabin – FUSEC
Experimentação clínica com SRO à base de glutamina

Ficha de acompanhamento do paciente com diarréia e/ou desnutrido

Ficha Nº: _____
 Registro do HIAS: _____
 SRO Nº: _____

A. Dados demográficos:

Nome: _____
 Sexo: M / F Idade: _____ meses Data Nasc.: ____/____/____

B. Acompanhamento Clínico:

1. Diarréia () Sim Duração até hoje: _____ dias
 () Não

Evolução da diarréia: Dia de início: ____/____/____ Dia de término: ____/____/____

Tratamento: Dia início: ____/____/____ Dia término: ____/____/____

Vitamina A: início ____/____/____	(100,000 IU < 1 anos; 200,000 IU > 1 anos)	DOSE _____ 20 mg/dia
Zinco: início ____/____/____	término ____/____/____	

Dias da Semana:	2ª	3ª	4ª	5ª	6ª	sab	dom	2ª	3ª	4ª	5ª	6ª	sab	dom
Sintomas (1.Sim; 2. Não)														
1. Diarréia aquosa e/ sangue	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
2. Febre (≥ 37,8° C)	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
3. Dor abdominal	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
4. Câimbras:	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
5. Outros:	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
6. N° de evacuações/24hs:	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
7. N° de vômitos/24 hs:	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
8. Desidratação	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Se sim: Mod. 1 / Sev. 2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

Observações: _____

BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
 UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

C. Balanço hídrico diário: 1º dia 2º dia 3º dia 4º dia 5º dia

Dias de Evolução:

Ingesta 24hs (ml):

SRO (50-100ml/Kg/dia) _____

Outros Líquidos _____

Soro venoso _____

Total: _____

Obs: _____

Perda 24hs(ml):

Fezes _____

Urina _____

Vômitos _____

Total _____

Obs: _____

D. Teste de Lactulose (4g)/Manitol (1g) em 20 ml de água:

Teste (2ml/Kg de peso – máximo 20 ml)

	Inicial	Final	
Data	___/___/___	___/___/___	
Início	___:___ hs	___:___ hs	
Final	___:___ hs	___:___ hs	
Urina Total	___ ml	___ ml	
Peso*	___ Kg	___ Kg	* Peso da Criança Hidratada
Altura	___ Mts	___ Mts	
Prega cut.	___ cm	___ cm	
Circ. Brag.	___ cm	___ cm	

E. Laboratório

Amostras (1.Sim, 2. Não)

1.Fezes: _____ Data: ___/___/___ OBS: _____

_____ Data: ___/___/___

2.Sangue: _____ Data: ___/___/___ creat: _____ mg/ml uréia: _____

_____ Data: ___/___/___ creat: _____ mg/ml uréia: _____

OBS: _____

Investigador: _____

Coordenador: Prof. Dr. Aldo Ângelo Moreira Lima. Tel. 223-6982/Fax.: 281-5112

Diretora: Dra. Ma. Ceci V. Martins. Tel. 247-1745/9990-5820/239-2672

9.3 Comissão de Ética



Ministério da Educação e Cultura
UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

DECLARAÇÃO

Declaramos para os devidos fins que o Projeto intitulado: "Role of Cytokines, Cellular Immunologic Determinants and New Approaches to Treating Persistent Diarrhea in Population at High Risk for Cryptosporidium Enteroaggregative E.coli and other Enteric Infection" tendo como responsável o Dr. Aldo Ângelo Moreira Lima, foi reapresentado e reaprovaado pelo Comitê de Ética em Pesquisa.

Fortaleza, 18 de Março de 1999.


Dra. Maria Elizabete Amaral de Moraes
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa



Ministério da Educação e Cultura
UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

18 March 1999.

DECLARATION

Assurance no.	S-6447-06
Project no.	2 P50 AI30639-08
Project Title:	Role of Cytokines, cellular Immunologic Determinants and New Approaches to Treating Persistent Diarrhea in Populations at high Risk for <u>Cryptosporidium</u> Enteroaggregative <u>E.coli</u> and Enteric Infections.

This is to declare that the Institutional Review Board of the Federal University of Ceará, Fortaleza, Brazil has reviewed and approved the Protocol and Human Consent forms relative to the above-cited Project.

(Moraes)

Maria Elizabete Amaral de Moraes
Chairperson, IRB
Federal University of Ceará

hna