

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

ANA AUGUSTA MONTEIRO CAVALCANTE

**NUTRIÇÃO ENTERAL SUPLEMENTADA COM L-GLUTAMINA E SUA AÇÃO
SOBRE O PROCESSO INFLAMATÓRIO, O METABOLISMO GLICOLÍTICO, O
SISTEMA IMUNE E O ESTRESSE OXIDATIVO DE PACIENTES COM SÍNDROME
DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA SISTÊMICA**

FORTALEZA

2010

ANA AUGUSTA MONTEIRO CAVALCANTE

**NUTRIÇÃO ENTERAL SUPLEMENTADA COM L-GLUTAMINA E SUA AÇÃO
SOBRE O PROCESSO INFLAMATÓRIO, O METABOLISMO GLICOLÍTICO, O
SISTEMA IMUNE E O ESTRESSE OXIDATIVO DE PACIENTES COM SÍNDROME
DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA SISTÊMICA**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Cirurgia do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Ciências Médico-Cirúrgicas.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos

FORTALEZA

2010

C364n Cavalcante, Ana Augusta Monteiro

Nutrição enteral suplementada com l-glutamina e sua ação sobre o processo inflamatório, o metabolismo glicolítico, o sistema imune e o estresse oxidativo de pacientes com síndrome da resposta inflamatória sistêmica / Ana Augusta Monteiro Cavalcante. – Fortaleza, 2010.

185 f.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos
Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Ceará. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Cirurgia, Fortaleza, CE.

1. Sepsis 2. Glutamina 3. Suplementos Dietéticos 4. Estresse Oxidativo 5. Ensaio Clínico I. Vasconcelos, Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos (orient.) II. Título.

CDD: 615.855

ANA AUGUSTA MONTEIRO CAVALCANTE

**NUTRIÇÃO ENTERAL SUPLEMENTADA COM L-GLUTAMINA E SUA AÇÃO
SOBRE O PROCESSO INFLAMATÓRIO, O METABOLISMO GLICOLÍTICO, O
SISTEMA IMUNE E O ESTRESSE OXIDATIVO DE PACIENTES COM SÍNDROME
DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA SISTÊMICA**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Cirurgia do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências Médico-Cirúrgicas.

Aprovada em 28/09/2010

BANCA EXAMINADORA

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

Prof^ª. Dr^ª. Lydia Masako Ferreira
Universidade Federal de São Paulo

Prof. Dr. Osvaldo Malafaia
Faculdade Evangélica do Paraná

Prof^ª. Dr^ª. Siulmara Cristina Galera
Universidade de Fortaleza

Prof. Dr. Sérgio Botelho Guimarães
Universidade Federal do Ceará

Aos meus pais Erildo e Maria José (*in memoriam*)
pela vida, amor, educação, encorajamento e
ensinamentos.

Ao meu querido Fernando pelo carinho, amor,
confiança, presença constante e, sobretudo, por
acreditar sempre que se consegue tudo com
paciência e dedicação.

Aos meus filhos, Alessandro e Erildo, pelas
constantes e essenciais demonstrações de carinho,
confiança, cooperação, alegria e amor que sempre
fortaleceram e motivaram minhas jornadas de
trabalho.

Agradeço a Deus,
Pela presença fortalecedora, confortante e constante na minha vida.

E aos Anjos de Guarda,
Fiéis mensageiros de Deus e guardiões da minha vida!

AGRADECIMENTOS

Agradeço de modo especial ao Professor Doutor Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos, meu orientador, Professor Associado do Departamento de Cirurgia e Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia da Universidade Federal do Ceará, pela acolhida, amizade, confiança, apoio, ensinamentos, paciência e orientação em todas as fases deste estudo, apresentando-me um conhecimento novo e incentivando-me constantemente a vencer os novos desafios.

Ao Programa de Pós-Graduação em Cirurgia da Universidade Federal do Ceará e seus professores, pela acolhida e valiosa contribuição para minha formação acadêmica, apresentando-me a pesquisa e dando-me a oportunidade de desenvolver este projeto.

Aos Professores Doutores Lusmar Veras Rodrigues, Sérgio Botelho Guimarães, Professores Associados do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal do Ceará e ao Professor Doutor João Aragão Ximenes Filho, Professor Adjunto do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal do Ceará, pelas relevantes contribuições e sugestões para delineamento do método deste estudo na Primeira Banca de Qualificação.

Ao Professor Doutor Lusmar Veras Rodrigues, Professor Associado do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal do Ceará, ao Professor Doutor Miguel Nasser Hissa, Professor Associado do Departamento de Medicina Clínica da Universidade Federal do Ceará e ao Professor Doutor Francisco Vagnaldo Fachine Jamacaru, Professor Visitante do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará pelas relevantes contribuições para finalização deste estudo na Segunda Banca de Qualificação.

A Professora Doutora Siulmara Cristina Galera, Professora Adjunta da Faculdade de Medicina da Universidade de Fortaleza, pela amizade, confiança, contribuições, ensinamentos e apoio incondicional em todas as fases deste estudo.

Ao Professor Doutor Miguel Nasser Hissa, Professor Associado do Departamento de Medicina Clínica da Universidade Federal do Ceará, pela amizade, confiança e valiosa contribuição para realização de exames laboratoriais específicos.

Ao Professor Doutor Osvaldo Malafaia, Professor Titular de Cirurgia do Curso de Medicina da Faculdade Evangélica do Paraná e a Professora Doutora Lydia Masako Ferreira, Professora Titular do Departamento de Cirurgia da Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de São Paulo pela participação e pelas relevantes contribuições na Banca de Defesa.

A Engenheira de Alimentos Camila Marques Ferreira pela separação e pesagem do material de suplementação e por ser fiel depositária das informações sobre os suplementos usados neste estudo.

A Nutricionista Aline Matos Cunha, Especialista pela Universidade Gama Filho, pela valiosa colaboração na seleção dos pacientes e apoio no monitoramento deste estudo.

Aos Acadêmicos da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará Raquel Cavalcante de Vasconcelos e Marcelo Pinho Pessoa de Vasconcelos pela colaboração no decorrer deste estudo.

A Professora Zirlane Castelo Branco Coelho, a Professora Doutora Jânia Teixeira, Professoras Adjuntas do Departamento de Patologia e Medicina Legal da Universidade Federal do Ceará e a Mércia Sindeaux, Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Parasitologia da Universidade Federal do Ceará, pelo excelente apoio na preparação das amostras, armazenamento e realização de análises laboratoriais específicas.

Ao meu colega Márcio Wilker Soares Campelo, Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Cirurgia da Universidade Federal do Ceará, pela participação e colaboração nas análises estatísticas.

Ao Emídio Alves dos Santos Filho, Farmacêutico da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Ceará, pela colaboração na análise realizada no Laboratório Central Analítica Farmacêutica da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Ceará.

A Secretária da Pós-Graduação em Cirurgia da Universidade Federal do Ceará, Senhora Luciene Vieira de Oliveira pelo acompanhamento cuidadoso da minha vida acadêmica, apoio, amizade, carinho, esforço, disponibilidade, confiança e incentivo, durante todo este período.

A Secretária da Pós-Graduação em Cirurgia da Universidade Federal do Ceará, Senhora Magda Gomes Fontenelle pela amizade, zelo, facilidades e dedicação, durante o doutorado.

Aos meus colegas da Pós-Graduação em Cirurgia da Universidade Federal do Ceará, com os quais tive o privilégio de estudar, conviver, aprender, trocar conhecimentos e firmar novas amizades.

A Direção do Laboratório Evandro Chagas, pela colaboração na realização dos exames laboratoriais gerais e, especialmente, ao Carlos Antonio Pereira dos Santos, Farmacêutico do Laboratório Evandro Chagas, pela paciência, disponibilidade, perseverança e presença, em quaisquer circunstâncias, para coletar todas as amostras durante este estudo.

A Direção da Empresa Nutrimed Parenteral e Enteral e seus funcionários, pelo apoio irrestrito na preparação e distribuição das dietas.

A Direção Técnica da Casa de Saúde e Maternidade São Raimundo pela confiança e permissão para a realização deste trabalho de pesquisa e a equipe da UTI, pela abertura, acolhida, torcida e constantes demonstrações de estímulo, amizade e confiança durante toda a coleta de dados.

Ao CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Ministério da Ciência e Tecnologia, que concedeu Bolsa de Doutorado.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Aos familiares dos pacientes da UTI da Casa de Saúde e Maternidade São Raimundo, que confiaram em mim e no meu orientador, depositaram suas esperanças na Ciência e permitiram a participação dos seus entes queridos neste estudo.

RESUMO

NUTRIÇÃO ENTERAL SUPLEMENTADA COM L-GLUTAMINA E SUA AÇÃO SOBRE O PROCESSO INFLAMATÓRIO, O METABOLISMO GLICOLÍTICO, O SISTEMA IMUNE E O ESTRESSE OXIDATIVO DE PACIENTES COM SÍNDROME DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA SISTÊMICA. ANA AUGUSTA MONTEIRO CAVALCANTE. Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Cirurgia, Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará. Orientador: Professor Doutor Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos.

A Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica (SRIS) caracteriza-se por uma liberação excessiva de mediadores inflamatórios a uma série de situações clínicas graves. A utilização da glutamina em doses nutracêuticas tem sido estudada como uma estratégia de proteção tecidual e metabólica em situações de estresse, melhorando a resposta imune de pacientes. Os efeitos da nutrição enteral suplementada com 30g/dia de glutamina sobre os marcadores inflamatórios, do metabolismo glicolítico, da função imune e do estresse oxidativo foram estudados em pacientes adultos e idosos com SRIS. Foi realizado estudo clínico prospectivo, randomizado, controlado, duplo-cego, cruzado. Trinta e seis pacientes internados em Unidade de Terapia Intensiva foram selecionados pelos critérios do estudo, diagnóstico da SRIS e score APACHE II ($>10<20$), distribuídos em dois grupos e submetidos à suplementação com 1 litro de dieta enteral suplementada com 30g de L-glutamina ou caseinato de cálcio ou 1 litro de dieta enteral suplementada com 30g de caseinato de cálcio ou L-glutamina por dois dias, intervalo de um dia somente com dieta, perfazendo quatro dias de dieta com suplementação. Amostras de sangue foram coletadas antes (T0) e após (T1) cada suplementação. Foram realizadas análises do hematócrito, leucócitos, linfócitos, monócitos, pré-albumina, uréia, creatinina, glicose, lactato, peptídeo-C e insulina, das IL-1, IL-6, IL-10, TNF α , glutatona, TBARS e dos aminoácidos glutamina e glutamato. Seis pacientes foram a óbito durante o estudo e trinta pacientes concluíram o estudo, sendo 16(53%) homens e 14(47%) mulheres, mediana de idade 74,4 anos (30-92 anos), moderadamente graves, mediana de APACHE II 13,1 (10-19) e mediana de ingestão calórica de 1464kcal/dia (792-1914kcal/dia). O uso L-glutamina em dose nutracêutica de 30g/dia não mostrou alterações nos parâmetros hematológicos. Houve aumento da uréia [Caseinato T1=47,000mg/dL (34,000-69,000mg/dL) *versus* Glutamina T1=50,000mg/dL (36,750-75,000mg/dL); $p=0,030$] na comparação intergrupos, mas não houve diferença estatisticamente significativa de creatinina em nenhum dos grupos. Não houve alteração estatisticamente significativa nos parâmetros inflamatórios (IL-1, IL-6, IL-10 e TNF α). A contagem de leucócitos diminuiu significativamente em ambos os grupos [Caseinato T0=13.650 1/mm³ (10.148-18.250 1/mm³) *versus* T1=11.500 1/mm³ (8.050-29.100 1/mm³); $p=0,019$] e [Glutamina T0=12.850 1/mm³ (11.155-15.550 1/mm³) *versus* T1=11.000 1/mm³ (9.200-16.325 1/mm³); $p=0,046$]. Houve aumento estatisticamente significativo na contagem de linfócitos na comparação intergrupos [Caseinato T1=1.085 1/mm³ (805-1.363 1/mm³) *versus* Glutamina T1=1.916 1/mm³ (1.301-2.517 1/mm³); $p<0,0001$], uma diminuição estatisticamente significativa no grupo Caseinato [T0=1.288 1/mm³ (834-2.209 1/mm³) *versus* T1=1.085 1/mm³ (805-1.363 1/mm³); $p=0,0324$] e aumento no grupo Glutamina [T0=954 1/mm³ (785-1.442 1/mm³) *versus* T1=1.916 1/mm³ (1.301-2.517 1/mm³); $p<0,0001$]. Observou-se redução estatisticamente significativa na dosagem do TBARS na comparação intragrupos [Caseinato T0=20,56 μ mol MDA/ml (13,64-20,56 μ mol MDA/ml) *versus* T1=15,08 μ mol MDA/ml (13,64-20,56 μ mol MDA/ml); $p=0,001$] e [Glutamina T0=17,67 μ mol MDA/ml (8,11-34,98 μ mol MDA/ml) *versus* T1=16,52 μ mol MDA/ml (5,41-21,86 μ mol MDA/ml); $p=0,020$], mas não houve diferenças intergrupos. A concentração sanguínea de glutatona apresentou uma redução estatisticamente significativa no grupo Caseinato (T0=486,00 μ mol/ml \pm 165,80 μ mol/ml) *versus* T1=451,00 \pm 167,40 μ mol/ml; $p=0,047$) e não houve diferença no grupo Glutamina, tampouco entre os grupos. Glutamina e glutamato não demonstraram diferenças estatisticamente significantes. Conclui-se que a nutrição enteral suplementada com glutamina em dose nutracêutica de 30g/dia em pacientes moderadamente graves promove um aumento dos linfócitos, contribui para reduzir a peroxidação lipídica e mantém a capacidade antioxidante da glutatona, interferindo de forma benéfica na modulação da resposta inflamatória e do estresse, mas não apresenta nenhum efeito sobre a concentração de citocinas ou parâmetros glicolíticos.

Palavras-chave: Sepses. Glutamina. Estresse Oxidativo. Ensaio Clínico.

ABSTRACT

ENTERAL NUTRITION SUPPLEMENTED WITH L-GLUTAMINE AND ITS ACTION ON THE INFLAMMATORY PROCESS, THE GLYCOLYTIC METABOLISM, THE IMMUNE SYSTEM AND THE OXIDATIVE STRESS OF PATIENTS WITH SYSTEMIC INFLAMMATORY RESPONSE SYNDROME. Thesis (Doctorate). Post-Graduation Program (*Stricto Sensu*) in Surgery. Federal University of Ceará. Supervisor: Professor Doctor Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos.

The Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) is characterized by an excessive release of inflammatory mediators as a systemic inflammatory response to a serious clinical injuries. The use of glutamine in nutraceutical doses has been studied as a strategy in tissue protection and preservative of tissue metabolic function in stressful situations, helping to improve the immune response of patients. The effects of enteral glutamine supplementation in nutraceutical doses on the inflammatory markers, of glycolytic metabolism, of immune system and of oxidative stress were studied in adult and elderly patients with SIRS in a prospective, clinical, randomized, controlled, double-blind crossover study. Thirty six moderately severe patients admitted to the Intensive Care Unit were selected according to pre-defined criteria, diagnosis of SIRS and the APACHE II score ($>10<20$), distributed into two groups and submitted to the supplementation with 1 litre of enteral nutrition with addition of 30g of L-glutamine or calcium caseinate or 1 litre of enteral nutrition with addition of 30g of calcium caseinate or L-glutamine for two days, pause for one day only with diet, followed by four days of supplementation. Blood samples were collected before (T0) and after (T1) each supplementation. For evaluation blood parameters (hematocrit, leukocytes, lymphocytes, monocytes, prealbumin, blood urea nitrogen, creatinine, glucose, lactate, C-peptide and insulin), IL-1, IL-6, IL-10 and TNF α were also assayed. Glutathione, TBARS, and glutamine and glutamate amino acids were measured. Six patients died during the study. Thirty patients finished the study, 16 men (53%) and 14 (47%) women, median age 74.4 years (30-92 years) in moderately severe state of health (APACHE II 13.1 - range 10-19). All patients developed SIRS and were given enteral nutrition supplemented with L-glutamine or calcium caseinate, 1464kcal/day (range 792-1914kcal/day). The use of L-glutamine in nutraceutical dose of 30g/day showed no changes in blood parameters. All laboratory parameters remained within normal values except the blood urea [Calcium Caseinate T1=47.0mg/dL (range 34.0-69.0 mg/dL) *versus* Glutamine T1=50.0mg/dL (36.75-75.0mg/dL); $p=0.030$]. Creatinine concentrations were not statistically different. There was no statistically significant difference in assessment of inflammatory parameters (IL-1, IL-6, IL-10 E TNF α). Leukocytes count decreased significantly in both groups [Calcium Caseinate T0=13.650 1/mm³ (10.148-18.250 1/mm³) *versus* T1=11.500 1/mm³ (8.050-29.100 1/mm³); $p=0,019$] and [Glutamine T0=12.850 1/mm³ (11.155-15.550 1/mm³) *versus* T1=11.000 1/mm³ (9.200-16.325 1/mm³); $p=0.046$]. There was increase statistically significant difference in lymphocytes count between groups [Calcium Caseinate T1=1085 1/mm³ (range 805-1363 1/mm³) *versus* Glutamine T1=1916 1/mm³ (1301-2517 1/mm³); $p<0.0001$] and Calcium Caseinate group decreases [T0=1288 1/mm³ (range 834-2209 1/mm³) *versus* T1=1085 1/mm³ (range 805-1363 1/mm³); $p=0.0324$] and Glutamine group increases [T0=954 1/mm³ (range 785-1442 1/mm³) *versus* T1=1916 1/mm³ (range 1301-2517 1/mm³); $p<0.0001$]. Blood concentration of TBARS decreased significantly in both groups [Calcium Caseinate T0=20.56 μ mol MDA/ml (range 13.64-20.56 μ mol MDA/ml); $p=0.001$] and [Glutamine T0=17.67 μ mol MDA/ml (range 8.11-34.98 μ mol MDA/ml) *versus* T1=16.52 μ mol MDA/ml (range 5.41-21.86 μ mol MDA/ml); $p=0.020$]. The blood concentrations of Glutathione showed a statistically significant reduction in caseinate group (T0=486.0 μ mol/ml (range 486.0 \pm 165.8 μ mol/ml *versus* T1=451.0 \pm 167.4 μ mol/ml; $p=0.047$) and no statistically significant difference in the glutamine group, nor between groups. However, there were no differences between groups. Glutamine and glutamate were not statistically different. Enteral nutrition supplemented with glutamine in nutraceutical doses of 30g/day increase lymphocyte count, helps to reduce lipid peroxidation and maintains the antioxidant glutathione capacity, interfering beneficially modulating the inflammatory response and stress, but present no effect upon cytokines concentrations or glycolytic parameters.

Keywords: Sepsis. Glutamine. Oxidative Stress. Clinical Trial.

LISTA DE FIGURAS

1	Desenho do Estudo.....	51
2	Valores do hematócrito mensurados antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.....	70
3	Contagem de leucócitos mensurados antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.....	71
4	Percentual de linfócitos mensurados antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.....	72
5	Contagem de linfócitos mensurados antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.....	73
6	Valores de monócitos mensurados antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.....	74
7	Concentração sanguínea de pré-albumina mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.....	75
8	Concentração sanguínea da uréia mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.....	76
9	Concentração sanguínea da creatinina mensurada antes (T0) e após (T1) do tratamento nos indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.....	77
10	Concentração sanguínea da glicose mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.....	78
11	Concentração sanguínea de lactato mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.....	79

12	Concentração sanguínea de peptídeo C mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.....	80
13	Concentração sanguínea da insulina mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.....	81
14	Concentração sanguínea de IL-1 mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.....	82
15	Concentração sanguínea de IL-6 mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.....	83
16	Concentração sanguínea de IL-10 mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.....	84
17	Concentração sanguínea de TNF α mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.....	85
18	Concentração sanguínea de glutathiona mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.....	86
19	Concentração sanguínea de TBARS mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.....	87
20	Concentração plasmática de glutamina mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.....	88
21	Concentração plasmática de glutamato mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.....	89
22	Razão glutamato/glutamina mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.....	90

LISTA DE TABELAS

1	Perfil dos Pacientes do Estudo.....	66
2	Valores da Média±Desvio Padrão ou Mediana (Intervalo Interquartil) dos parâmetros avaliados, referentes aos grupos Caseinato e Glutamina, obtidos nos tempos T0 e T1.....	68
3	Valores da média e desvio padrão do hematócrito (%) mensurado nos tempos T0 e T1 em 28 indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.....	70
4	Valores da mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) dos leucócitos (µL) mensurados nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.....	71
5	Valores da mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) do percentual de linfócitos mensurados nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.....	72
6	Valores da mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) da contagem dos linfócitos nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.....	73
7	Valores da mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) do percentual de monócitos mensurados nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.....	74
8	Valores da mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) da concentração sanguínea de pré-albumina (g/L) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.....	75
9	Valores da mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) da concentração sanguínea da uréia (mg/dL) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.....	76
10	Valores da mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) da concentração sanguínea da creatinina (mg/dL) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.....	76
11	Valores da mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) da concentração sanguínea da glicose (mg/dL) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.....	78

12	Valores da mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) da concentração sanguínea de lactato (mmol/L) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.....	79
13	Valores da mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) da concentração sanguínea de Peptídio C (ng/mL) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.....	80
14	Valores da mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) da concentração sanguínea da insulina (μ U/mL) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.....	81
15	Valores da mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) da concentração sanguínea de interleucina 1 (IL-1) (pg/mL) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.....	82
16	Valores da mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) da concentração sanguínea de interleucina 6 (IL-6) (pg/mL) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.....	83
17	Valores da mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) da concentração sanguínea de interleucina 10 (IL-10) (pg/mL) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.....	83
18	Valores da mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) da concentração sanguínea de TNF α (pg/mL) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.....	84
19	Valores da média e desvio padrão da concentração sanguínea de glutatona (μ mol/mL) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.....	86
20	Valores da mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) da concentração sanguínea de TBARS (μ mol MDA/mL) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.....	87
21	Valores da média e desvio padrão da concentração plasmática de glutamina (μ mol/L) mensurada nos tempos T0 e T1 dos grupos Caseinato e Glutamina.....	88

22	Valores da mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) da concentração plasmática de glutamato ($\mu\text{mol/L}$) mensurada nos tempos T0 e T1 em 10 indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.....	89
23	Valores da mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) da razão glutamina/glutamato ($\mu\text{mol/L}$) mensurada nos tempos T0 e T1 em 10 indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.....	90

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

SRIS	Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica
CARS	Síndrome da Resposta Anti-Inflamatória Compensatória
TNF α	Fator de Necrose Tumoral-alfa
IL	Interleucina
H ₂ O ₂	Peróxido de Hidrogênio
O ₂	Radical Superóxido
OH	Radical Hidroxila
ERRO	Espécies Reativas de Oxigênio
TBARS	Ácido Tiobarbitúrico
MDA	Dialdeído Malônico ou Malondialdeído
GSH	Glutathione
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
APACHE II	Second Acute Physiology and Chronic Health Evaluation
L-glutamina	Glutamina na forma livre
LEE	Laboratório de Epidemiologia e Estatística
T0	Tempo antes da suplementação
T1	Tempo após a suplementação
ANS	Agência Nacional de Saúde
GOD	Glicose Oxidase
H ₂ O	Água
POD	Peroxidase
NAD	Nicotinamida-Adenina-Dinucleotídeo
NADH	Nicotinamida-Adenina-Dinucleotídeo-Fosfato reduzido
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CNS	Conselho Nacional de Saúde
IC	Intervalo de Confiança
N	Quantidade em números
NE	Nutrição Enteral
<i>p</i>	Significância Estatística ou Probabilidade
g	Grama
mm ³	Milímetro Cúbico
kcal	Kilocaloria
gN	Gramas de Nitrogênio
ml	Mililitro
mg/L	Miligramas por Litro
Kg	Kilograma
mg	Miligramas
μ mol/L	Micromol por Litro
vs	<i>Versus</i>
C	Celsius

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	22
1.1 Sepse e Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica	22
1.2 Glutamina	26
1.2.1 Glutamina e o Sistema Imune.....	31
1.2.2 Glutamina e Resposta Inflamatória.....	32
1.2.3 Glutamina e Estresse Oxidativo.....	35
1.2.4 Glutamina e Metabolismo Glicolítico.....	38
1.2.5 Glutamina e Barreira Intestinal.....	40
1.3 Nutrição Enteral e Imunonutrientes em UTI	42
2 OBJETIVO	46
3 MÉTODO	47
3.1 Tipo de Estudo	48
3.2 Local do Estudo	48
3.3 Participantes	48
3.3.1 Critérios de Inclusão, Exclusão e Retirada.....	49
3.3.2 Critério Diagnóstico da SRIS.....	50
3.4 Suplementos	51
3.5 Desenho do Estudo	52
3.5.1 Avaliação Cega.....	53
3.5.2 Procedimento de Randomização.....	53
3.5.3 Grupos Estudados.....	54
3.5.4 Tempos Avaliados.....	54
3.6 Desfechos Clínicos	55
3.7 Procedimentos de Coleta de Dados	55
3.8 Procedimentos Laboratoriais	57
3.8.1 Dosagem de Glicose.....	57
3.8.2 Concentração de Lactato.....	58
3.8.3 Dosagem de Peptídeo-C.....	59
3.8.4 Dosagem de Insulina.....	59
3.8.5 Dosagem de Pré-Albumina.....	60
3.8.6 Quantificação das Interleucinas.....	60
3.8.7 Dosagem da Glutamina.....	61
3.8.8 Dosagem da Concentração de Substâncias Reagentes ao Ácido Tiobarbitúrico – TBARS.....	61
3.8.9 Determinação da Glutamina.....	62
3.9 Análise Estatística	63
3.10 Financiamento	64
4 RESULTADOS	65
4.1 Características dos Participantes do Estudo	65
4.2 Efeito da suplementação de L-glutamina sobre a função hematológica	67
4.2.1 Percentual de hematócrito em pacientes com SRIS suplementados com L-glutamina pela via enteral.....	70
4.2.2 Contagem do número de leucócitos em pacientes com SRIS suplementados com L-glutamina pela via enteral.....	71
4.2.3 Percentual de linfócitos em pacientes com SRIS suplementados com L-glutamina pela via enteral.....	72
4.2.4 Contagem total de linfócitos em pacientes com SRIS suplementados com L-	

glutamina pela via enteral.....	73
4.2.5 Percentual de monócitos em pacientes com SRIS suplementados com L-glutamina pela via enteral.....	74
4.2.6 Dosagem de pré-albumina em pacientes com SRIS suplementados com L-glutamina pela via enteral.....	75
4.3 Efeito da suplementação de L-glutamina sobre a função renal.....	76
4.3.1 Dosagem de uréia em pacientes com SRIS suplementados com L-glutamina pela via enteral.....	76
4.3.2 Dosagem de creatinina em pacientes com SRIS suplementados com L-glutamina pela via enteral.....	77
4.4 Efeito da suplementação de L-glutamina sobre o metabolismo glicolítico.....	78
4.4.1 Dosagem de glicose em pacientes com SRIS suplementados com L-glutamina pela via enteral.....	78
4.4.2 Dosagem de lactato em pacientes com SRIS suplementados com L-glutamina pela via enteral.....	79
4.4.3 Dosagem de peptídeo-C em pacientes com SRIS suplementados com L-glutamina pela via enteral.....	80
4.4.4 Dosagem de insulina em pacientes com SRIS suplementados com L-glutamina pela via enteral.....	81
4.5 Efeito da suplementação de L-glutamina sobre o processo inflamatório.....	82
4.5.1 Dosagem das interleucinas (IL-1, IL-6 e IL-10) em pacientes com SRIS suplementados com L-glutamina pela via enteral.....	82
4.5.2 Dosagem de TNF α em pacientes com SRIS suplementados com L-glutamina pela via enteral.....	84
4.6 Efeito da suplementação L-glutamina sobre o estresse oxidativo.....	85
4.6.1 Dosagem de glutathiona em pacientes com SRIS suplementados com L-glutamina pela via enteral.....	85
4.6.2 Dosagem de TBARS em pacientes com SRIS suplementados com L-glutamina pela via enteral.....	86
4.7 Efeito da suplementação L-glutamina sobre as concentrações sanguíneas de glutamina e glutamato.....	87
4.7.1 Concentrações plasmáticas de glutamina em pacientes com SRIS suplementados com L-glutamina pela via enteral.....	87
4.7.2 Concentrações plasmáticas de glutamato em pacientes com SRIS suplementados com L-glutamina pela via enteral.....	88
4.7.3 Razão glutamato/glutamina.....	89
5 DISCUSSÃO	91
6 CONCLUSÃO.....	106
REFERÊNCIAS.....	107
APÊNDICE A - Carta de Anuência da Direção Técnico-Científica do Hospital São Raimundo.....	126
APÊNDICE B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	129
APÊNDICE C - Ficha de Identificação.....	136
APÊNDICE D - Dados Brutos.....	138
APÊNDICE E - Cálculo do Padrão de Aminoácidos da Fonte Protéica: mg de aminoácido / g de proteína.....	158
ANEXO A - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa.....	160
ANEXO B - Fichas Técnicas dos Suplementos.....	161
ANEXO C - Aminograma do Caseinato de Cálcio.....	169

ANEXO D - Ficha Técnica do Nutri Enteral®	170
ANEXO E - Tradução do protocolo e técnicas laboratoriais específicas para avaliar a capacidade antioxidante - GSH 420 –Assay.....	174
ANEXO F - Tradução do protocolo e técnicas laboratoriais específicas para avaliar a capacidade antioxidante - TBARS –Assay Kit.....	176
ANEXO G - Tradução da informação sobre o produto e técnicas laboratoriais específicas para determinação da Glutamina - Glutamine/Glutamate Determination Kit.....	180

1 INTRODUÇÃO

1.1 Sepse e Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica (SRIS)

A sepse é uma síndrome infecciosa resultante da ativação e da liberação excessiva de mediadores inflamatórios em resposta a uma infecção, normalmente, bacteriana (BONE *et al.*, 1997; BOSSI *et al.*, 2004). Apesar das avançadas tecnologias médicas, a sepse representa a maior causa de morte em Unidades de Terapia Intensiva do mundo e a sua incidência está sempre aumentando, elevando os custos do sistema de saúde e as taxas de mortalidade. Dados do Center of Diseases Control and Prevention (CDC) mostram a sepse como a terceira causa de morte nos Estados Unidos, sendo responsável por 9% de todas as mortes anuais. A cada ano, aproximadamente 750.000 novos casos de sepse ocorrem nos Estados Unidos, onde também está envolvida em 2% das causas de hospitalizações, com uma progressão de cerca de um milhão de novos casos a cada ano até 2020 (MARTIN *et al.*, 2003; O'BRIEN *et al.*, 2007).

No Brasil, a situação não é diferente. Estudo de coorte realizado entre 2004 e 2006, envolveu 3128 pacientes, dos quais 521 foram diagnosticados como tendo sepse, sepse grave ou choque séptico. Os 65 hospitais de todas as regiões do país mostraram uma elevada mortalidade por sepse (46,6%) nas 75 UTI estudadas, além de constatar que os pacientes brasileiros eram mais graves (Apache II = 20) e apresentavam tempo de internação hospitalar mais longo (SALES JÚNIOR *et al.*, 2006).

Em 1991, o American College of Chest Physicians e a Society of Critical Care Medicine (ACCP/SCCM) realizaram uma conferência de consenso para definir um conceito para a resposta inflamatória sistêmica frente à infecção, caracterizada por um processo progressivo de uma sequência de lesões que se definia sob o termo generalizado de sepse e disfunção múltipla de órgãos (BONE, 1991).

No ano seguinte (1992) a ACCP/SCCM introduziu o termo Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica (SRIS). Neste consenso a sepse é uma entidade clínica heterogênea definida pelas mudanças fisiológicas conhecidas como SRIS, a qual ocorre em resposta a uma presumida etiologia infecciosa. Esta sigla proporcionaria uma referência para os achados complexos que resultam da ativação sistêmica da resposta do sistema imune, independentemente da causa (BONE, 1991; PEREIRA JÚNIOR *et al.*, 1998; ACCP/SCCM CONSENSUS CONFERENCE, 1992). Este consenso se baseava na hipótese que a SRIS é

uma manifestação não específica do hospedeiro em resposta a situações clínicas como infecções, local ou generalizada, trauma, lesão térmica e processos inflamatórios, como a pancreatite aguda (BONE, 1991; KUMAR; LEAPER, 2005).

O conceito de SRIS é válido na medida em que a resposta inflamatória sistêmica pode ser desencadeada por variadas doenças infecciosas e condições não infecciosas porque os sinais de inflamação sistêmica podem ocorrer na ausência de infecção, entre pacientes com queimaduras, pancreatite e outras doenças (LEVY *et al.*, 2003).

Até o presente, a SRIS é considerada um estado inflamatório do organismo que pode ser desencadeado na presença ou ausência de infecção e é considerada uma síndrome complexa que põe em risco a vida do paciente. Este termo foi designado para incluir todos os pacientes que apresentam uma significativa liberação de mediadores inflamatórios como uma resposta inflamatória sistêmica a uma série de condições clínicas graves. Esta resposta se manifesta quando ocorrem duas ou mais das situações clínicas que se seguem: temperatura $> 38^{\circ}\text{C}$ ou $< 36^{\circ}\text{C}$; frequência cardíaca > 90 batimentos/minuto; frequência respiratória > 20 movimentos/minuto e a contagem de glóbulos brancos $> 12.000/\text{mm}^3$ ou $< 4.000/\text{mm}^3$ ou bastonetes $> 10\%$ (BONE, 1991; PEREIRA JÚNIOR *et al.*, 1998; ACCP/SCCM CONSENSUS CONFERENCE, 1992).

Durante a Conferência Internacional de Definição da Sepsis (2001) optou-se por ampliar a lista de sinais e sintomas da sepsis, valorizando-se assim, a experiência clínica dos intensivistas. Dentre os critérios diagnósticos incluídos encontra-se a proteína C-reativa no plasma $> 2\text{DP}$ (Desvio Padrão) do valor normal (ACCP/SCCM CONSENSUS CONFERENCE, 1992; LEVY *et al.*, 2003).

A sepsis, uma síndrome complexa causada pela resposta inflamatória sistêmica descontrolada do indivíduo, ocorre quando a SRIS é decorrente de um processo infeccioso comprovado. Para Kumar *et al.* (2005) a sepsis é a SRIS com uma infecção documentada. É uma condição caracterizada por manifestações múltiplas que podem determinar disfunção orgânica e a morte do paciente. O termo clínico sepsis não é uma doença específica mas uma síndrome que descreve os efeitos clínicos da resposta inflamatória não específica a uma variedade de agentes microbiológicos (KUMAR; LEAPER, 2005).

SRIS e sepsis ocorrem por estímulo excessivo de mediadores inflamatórios ou como uma resposta sistêmica a uma variedade de estímulos infecciosos e não-infecciosos (BONE, 1991; SALLES *et al.*, 1999). Os pacientes com SRIS, de origem séptica ou não, cursam com um quadro hipermetabólico, cujo objetivo é o de fornecer substratos energéticos

e protéicos necessários aos mecanismos imunológicos de defesa e reparação de tecidos. A consequência deste estado é a perda de massa muscular magra, corpórea, desproporcional ao período de jejum, com um balanço nitrogenado acentuadamente negativo (CAMPOS *et al.*, 1996).

A sepse grave ocorre quando a sepse se associa a manifestações de hipoperfusão tecidual e disfunção orgânica (KUMAR; LEAPER, 2005), caracterizada por acidose láctica, oligúria ou alteração do nível de consciência, ou ainda, por hipotensão arterial, com pressão sistólica < 90 mmHg, porém sem necessidade de fazer uso de drogas vasopressoras (ACCP/SCCM CONSENSUS CONFERENCE, 1992).

O choque séptico é uma das mais frequentes causas de morte nas UTIs do mundo, tendo os seguintes fatores contribuintes para o seu surgimento: incremento do crescimento da população idosa (> 65 anos de idade), maior sobrevivência frente a diversas doenças debilitantes, emprego mais frequente de técnicas invasivas, maior número de pessoas imunossuprimidas sendo cuidadas e as infecções hospitalares (PEREIRA JÚNIOR *et al.*, 1998; CARVALHO; TROTTA, 2003; VINCENT; KORKUT, 2008).

A patogênese da sepse é um processo extremamente complexo que envolve múltiplas interações entre o hospedeiro e o microrganismo invasor. Além disso, a sepse é um processo dinâmico que envolve componentes do sistema imune (KUMAR; LEAPER, 2005).

Progressos consideráveis já foram realizados com vistas a aprimorar a compreensão dos processos pelos quais ocorre a interação entre o reconhecimento do patógeno pelo sistema imune e o início de uma cascata de eventos que resulta em lesão celular que pode progredir para a insuficiência do órgão (PALOMAR *et al.*, 2007). A sepse pode ser definida por critérios clínicos inespecíficos que fazem as diferenças e não discriminam os mecanismos fisiopatológicos subjacentes (O'BRIEN *et al.*, 2007).

No final da década de 90 pesquisadores contestaram a ideia da resposta inflamatória ser exclusivamente pró-inflamatória e, apoiando-se sobre as constatações que mostravam a frequente presença de infecções nosocomiais, criaram a hipótese da existência de um componente antagonista a SRIS, a qual denominaram CARS - Síndrome da Resposta Anti-Inflamatória Compensatória. A CARS é uma reação anti-inflamatória desencadeada pelo organismo em resposta à reação inflamatória sistêmica, em que ocorre uma reação anti-inflamatória compensatória após a produção inicial de mediadores pró-inflamatórios, caracterizando-se como um estado de imunossupressão. O objetivo desta reação anti-

inflamatória é reduzir a expressão de mediadores pró-inflamatórios e modular seus efeitos, restaurando a homeostase (BONE *et al.*, 1992).

A sepse seria assim considerada uma entidade bimodal, com a primeira fase caracterizada pela produção sistêmica de citocinas pró-inflamatórias como as interleucinas TNF α (Fator de Necrose Tumoral), IL-1 e a IL-8 pela ativação do complemento e cascatas e, a segunda fase, pela produção sistêmica de citocinas anti-inflamatórias, tipo a IL-10. Estas citocinas são produzidas pelas células do sistema imune, principalmente macrófagos, e por outras células não específicas deste sistema, como as células endoteliais, plaquetas e fibroblastos. A concepção de que SRIS e CARS seriam duas fases sucessivas de mecanismos de defesa do organismo logo foi abandonada, pois estes dois componentes podem ocorrer simultaneamente, embora possam estar em desequilíbrio, com uma das duas fases dominando a outra, tendo como resultado um estado de inflamação excessivo ou uma imunossupressão (BONE; GRODZIN; BALK, 1997).

Quando a SIRS ocorre concomitantemente com a CARS, essa combinação de efeitos encontrada entre os dois extremos (respostas pró e anti-inflamatória) é denominada Síndrome da Resposta Mista Antagonística (MARS) (KUMAR; LEAPER, 2005).

Os monócitos e macrófagos são as primeiras células envolvidas na resposta imune-inflamatória. Estas células podem participar diretamente como efetoras (fagocitose, produção de citocinas), como moduladoras (recrutamento e ativação de outras células) e dirigem o curso da sepse devido ao seu espectro de atividade (KUMAR; LEAPER, 2005).

O endotélio comanda o papel central da resposta inflamatória sistêmica em virtude do seu tamanho e distribuição espacial. A ativação endotelial na sepse resulta em mudanças estrutural e funcional, variando de inchaço a desnudação total do endotélio, provocando um aumento da permeabilidade vascular, trombose e hipoxia, contribuindo para a lesão do tecido do parênquima (KUMAR; LEAPER, 2005).

Todo o desequilíbrio causado pela sepse ocorre apenas em pacientes graves, geralmente na maiores de 60 anos de idade (MARTIN *et al.*, 2009), em reanimação, pois na maioria das pessoas saudáveis o corpo tem aptidão para encontrar o equilíbrio entre a produção de mediadores pró e anti-inflamatórios e a homeostase é restaurada (BONE; GRODZIN; BALK, 1997).

O APACHE II (Second Acute Physiologic and Chronic Health Evaluation) é um sistema bem estabelecido de avaliação, amplamente utilizado em Unidades de Terapia

Intensiva como um método para comparar a gravidade da doença entre populações heterogêneas de pacientes (KNAUS, 2002). É um critério de admissão, realizado nas primeiras 24 horas de internação, designado para medir e classificar o índice de gravidade da doença em pacientes adultos (idade > 18 anos) em UTI, calculado a partir de doze rotinas fisiológicas, idade e doença crônica (KNAUS *et al.*, 1985). É considerado o melhor sistema para ser usado como uma ferramenta para comparar a gravidade das doenças em estudos clínicos ou populacionais (LEMESHOW; KLAR; TERES, 1995), ajudando a uniformizar e interpretar dados de pesquisas (KNAUS, 2002).

1.2 Glutamina

Uma das evoluções recentes com relação à nutrição artificial foi a reavaliação da importância nutracêutica de determinados aminoácidos, considerados não essenciais para o homem adulto saudável, porém reguladores do seu metabolismo protéico e, efetivamente, necessários ao seu sistema imune (GRIFFITHS; JONES; PALMER, 1997; JONES; PALMER; GRIFFITHS, 1997; GRIFFITHS, 1999; GRIFFITHS, 2001; ANDREWS; GRIFFITHS, 2002), as defesas antioxidantes, a manutenção da barreira intestinal, diminuição da resistência insulínica (COËFFIER; DÉCHELOTTE, 2009), resposta ao estresse e a diminuição da resposta inflamatória (COËFFIER; TAMION; DÉCHELOTTE, 2009).

Trata-se particularmente da glutamina, um aminoácido que recebeu considerável atenção nas duas últimas décadas e, algumas revisões sistemáticas (BASTIAN; WEIMANN, 2002; NOVAK *et al.*, 2002; GARCIA-DE-LORENZO *et al.*, 2003; JIANG; JIANG; FÜRST, 2004; FÜRST; ALTEHELD; STEHLE, 2004; HASENBOEHLER *et al.*, 2006; WISCHMEYER, 2007; BONGERS; GRIFFITHS; McARDLE, 2007; COËFFIER; DÉCHELOTTE, 2009; KUHN *et al.*, 2010) têm demonstrado seus benefícios.

Estudos clínicos mostraram que a suplementação de glutamina em dietas é bem tolerada, segura e pode estar associada a redução de complicações infecciosas, estresse oxidativo, permeabilidade intestinal, infecções, taxas de mortalidade e morbidade, custos e tempo de internação hospitalar, gerando potencialmente efeitos benéficos em crianças com muito baixo peso ao nascer (NEU *et al.*, 1997), em pacientes graves (D'SOUBA, 2001), com SRIS (CONEJERO *et al.*, 2002), politraumatizados (HOUDIJK *et al.*, 1998; KARINCH *et*

al., 2001), pós cirúrgicos (SENKAL *et al.*, 2004), queimados (WINDLE, 2006), com câncer (LIM *et al.*, 2009) e anoréticos (MONDELLO *et al.*, 2010).

A glutamina foi descrita pela primeira vez em 1883 por Schulze e Bosshard (1883) em uma publicação histórica denominada “Über das Glutamin” (SCHULZE; BOSSHARD, 1883). Entretanto, somente em 1914 Thierfelder e Sherwin fizeram alusão à presença e função da glutamina no organismo humano (THIERFELDER; SHERWIN, 1914). Alguns anos mais tarde, Krebs (1935) obteve êxito na síntese da glutamina *in vitro*, em um modelo empregando ácido glutâmico e íons de amônia em amostras de fígado (KREBS, 1935).

Vinnars *et al.* (1975) *apud* Griffiths (2001) foram os primeiros pesquisadores a observarem que, após cirurgia, trauma ou sepse, o pool de glutamina livre é depletado.

A glutamina é o aminoácido livre mais abundantemente encontrado no sangue e na reserva de aminoácidos livres do organismo. O músculo esquelético é considerado o maior produtor de glutamina, responsável por cerca de 60% da glutamina disponível no organismo (NEWSHOLME, 2001). O plasma humano contém aproximadamente 25% da produção de glutamina do organismo (NEWSHOLME, 2001). Pela elevada capacidade de síntese e liberação de glutamina, principalmente em situações onde ocorre aumento de demanda por outros órgãos e tecidos, o músculo esquelético exerce um papel metabólico essencial na regulação da glutaminemia (CRUZAT; PETRY; TIRAPEGUI, 2009).

Primariamente, a glutamina é sintetizada no músculo esquelético, o que permite a transferência de nitrogênio para os tecidos esplânicos, rins e sistema imune. A discrepância entre o aumento das taxas de utilização de glutamina pelo organismo e a relativa diminuição da síntese *de novo* no músculo esquelético, leva a uma deficiência de glutamina sistêmica, caracterizando a doença grave (BIOLO *et al.*, 1997).

Em muitos tecidos corpóreos como os rins, o fígado, os intestinos e o sistema imune, a glutamina é encontrada em concentrações elevadas, entretanto, em algumas condições clínicas como trauma, transplante de medula óssea, queimaduras, estados de agressão e caquexia do câncer, as concentrações intramusculares e plasmáticas de glutamina diminuem a ponto de ser necessária sua suplementação (CALDER, 1994; NEWSHOLME; CALDER, 1997).

A glutamina apresenta propriedades únicas e, em condições fisiológicas normais, o organismo é capaz de sintetizá-la em quantidade suficiente para satisfazer as necessidades nutricionais. Nestas condições a glutamina é considerada um aminoácido não essencial e pode ser sintetizada a partir de glutamato e ácido glutâmico sob ação da enzima glutamato-amonioligase (BUCHMAN, 2001). Entretanto, mesmo sendo quantitativamente o aminoácido

mais abundante do organismo humano, em situações de estresse a sua síntese é aumentada no músculo em resposta à agressão e a demanda metabólica excede a sua capacidade de síntese.

Assim, apesar da grande reserva muscular, ocorre uma profunda depleção de glutamina no plasma e nos tecidos nas doenças graves, durante situações de estresse catabólico, como traumas, cirurgias, queimaduras extensas, sepse e processos inflamatórios (WERNERMAN, 2008). Com a diminuição acentuada dos estoques e a produção endógena insuficiente de glutamina, torna-se necessária a suplementação por meio da dieta. Nestas situações a glutamina torna-se um aminoácido “condicionalmente essencial” pela combinação da ingestão dietética reduzida e o metabolismo acelerado, induzindo a depleção, apesar do fluxo aumentado a partir do músculo esquelético (LACEY; WILMORE, 1990; BANDT, 1996; WILMORE; SHABERT, 1998; NEWSHOLME, 2001; GRIFFITHS *et al.*, 2002; ANDREWS; GRIFFITHS, 2002; ARRUDA; AGUILAR-NASCIMENTO, 2004, WERNERMAN, 2008; DUPERTUIS; RAGUSO; PICHARD, 2009).

A infecção grave causa marcados desarranjos no fluxo de glutamina entre os órgãos e estas mudanças são acompanhadas por alterações significativas no transporte regional da membrana celular e intracelular do metabolismo da glutamina. Durante a infecção, o músculo esquelético, maior repositório da glutamina, é capaz de duplicar sua capacidade de liberação, o que está associado ao aumento significativo na biossíntese de glutamina endógena. Apesar do aumento de atividade da enzima glutamina sintetase no músculo esquelético, a reserva de glutamina intracelular diminui, indicando que as taxas de liberação excederam a capacidade de síntese. Simultaneamente, a quantidade de glutamina circulante também diminui, indicando acelerada absorção por outros órgãos (KARINCH *et al.*, 2001).

Em situação de estresse os fluxos interorgânicos de glutamina se modificam. No indivíduo saudável a glutamina é produzida principalmente pelo músculo esquelético e pulmões e consumida pelos intestinos, células do sistema imune e fígado. Na sepse, a produção de glutamina aumenta, mas o consumo de glutamina ocorre mais pelo fígado e células do sistema imune, que pelo intestino. Nesta condição, o fígado se torna o principal órgão de captação de glutamina do músculo esquelético, servindo como maior exportador deste aminoácido (NEWSHOLME; CALDER, 1997; KARINCH *et al.*, 2001).

Diversos estudos mostraram os benefícios da suplementação de glutamina em pacientes graves (ZIEGLER *et al.*, 1993; CALDER, 1994; FÜRST; POGAN; STEHLE, 1997; GRIFFITHS; JONES; PALMER *et al.*, 1997; WILMORE; SHABERT, 1998; JONES; PALMER; GRIFFITHS, 1999; GRIFFITHS, 2001; KARINCH *et al.*, 2001; CONEJERO *et*

al., 2002; GRIFFITHS *et al.*, 2002; NOVAK *et al.*, 2002; GARCIA DE LORENZO *et al.*, 2003; SENKAL *et al.*, 2004; WINDLE, 2006; BAKALAR *et al.*, 2006; DECHELOTTE *et al.*, 2006; BONET; GRAU, 2007; WISCHMEYER, 2007; FUENTES-OROZCO *et al.*, 2008; COËFFIER; TAMION; DÉCHELOTTE, 2009).

A suplementação de glutamina tem sido amplamente estudada, tanto em animais como em humanos, com resultados mais significativos por meio da nutrição parenteral total (GRIFFITHS *et al.*, 1997; GRIFFITHS *et al.*, 2002; DUGGAN *et al.*, 2004; FUENTES-OROZCO *et al.*, 2004; ALVES *et al.*, 2005; SINGLETON; BECKEY; WISCHMEYER, 2005; ZIEGLER *et al.*, 2005; HEYLAND *et al.*, 2006; HUBERT-BURON *et al.*, 2006; FUENTES-OROZCO *et al.*, 2008; MONDELLO *et al.*, 2010) e, principalmente, utilizando na suplementação dipeptídios como o L-alanil-glutamina (FÜRST; ALTEHELD; STEHLE, 2004; JIANG; JIANG; FÜRST, 2004).

Alguns estudos sobre a suplementação de glutamina por meio de nutrição enteral também demonstraram resultados satisfatórios, mas em menor escala, especialmente em pacientes graves (NEU *et al.*, 1997; HOUDIJK *et al.*, 1998; JONES; PALMER; GRIFFITHS, 1999; CONEJERO *et al.*, 2002; GARCÍA-DE-LORENZO *et al.*, 2003; MONTEJO *et al.*, 2003; ARRUDA; AGUILAR-NASCIMENTO, 2004; GÜVEN *et al.*, 2007; AGUILAR-NASCIMENTO; DOCK-NASCIMENTO; BRAGAGNOLO, 2010).

Recente revisão avaliou os efeitos potenciais da administração de glutamina em estudos clínicos e experimentais *in vivo* na oncologia clínica e mostrou que a suplementação oral e, especialmente parenteral, de glutamina, em doses elevadas, em geral aumenta a efetividade tumoricida da quimioterapia, reduzindo a toxicidade nos tecidos do hospedeiro (KUHN *et al.*, 2010).

Portanto, existe farta evidência que a suplementação de glutamina, particularmente via parenteral, pode ser efetiva na luta para contrapor a sua depleção sistêmica. A administração enteral de glutamina preferencialmente aumenta a sua eliminação nos tecidos esplânicos, enquanto a suplementação parenteral fornece glutamina para todo o organismo (BIOLO *et al.*, 1997).

Kieft *et al.* (2005) estudaram 597 pacientes adultos internados em UTI requerendo nutrição enteral pelo menos por dois dias, os quais foram randomizados para receber imunonutrição (fórmula de nutrição enteral hiperprotéica, enriquecida com arginina, glutamina e antioxidantes, ácido graxo ω -3 e mistura de fibras / Stresson Multi Fibre Nutricia®) ou fórmula isocalórica controlada, ambas livres de lactose e provendo 1,25kcal/ml. Os resultados deste estudo mostraram que a imunonutrição não foi benéfica na melhora de

parâmetros clínicos, não havendo diferença estatisticamente significativa entre o uso de uma fórmula ou outra (KIEFT *et al.*, 2005). Estes resultados são consistentes com outros estudos encontrados na literatura, os quais não mostraram benefícios com o uso de nutrição enteral suplementada com glutamina em pacientes graves internados em UTI (SCHULMAN *et al.*, 2005; KUMAR *et al.*, 2007; LOU *et al.*, 2008; MARIK; ZALOGA, 2008).

Entretanto, deve-se chamar atenção que, apenas nos estudos de Schulman *et al.* (2005), Kumar *et al.* (2007) e Lou *et al.* (2008) a glutamina foi utilizada de forma isolada. Nos demais estudos supracitados (KIEFT *et al.*, 2005; MARIK; ZALOGA, 2008) a glutamina não foi usada isoladamente e sim, combinada com outros imunonutrientes.

Em editorial da Revista Intensive Care Medicine, Heyland *et al.* (2005) advertem que a ausência de resultados nos estudos de Kieft *et al.* (2005) pode ser atribuída ao fato da suplementação ter sido realizada com uma combinação de nutrientes contidos em único produto nutricional e testado em populações heterogêneas de pacientes (HEYLAND; DHALIWALM, 2005).

Novak *et al.* (2002) observaram em metanálise que a suplementação de glutamina em dose elevada está associada a maior efeito do tratamento de pacientes cirúrgicos, com redução de complicações infecciosas, menor permanência hospitalar e sem qualquer efeito adverso sobre a mortalidade. Em pacientes graves, a suplementação de glutamina pode ser associada à redução de complicações e taxas de mortalidade. Entretanto, os melhores benefícios foram observados em pacientes que receberam a suplementação de glutamina por nutrição parenteral (NOVAK *et al.*, 2002).

Na sepse a depleção de glutamina se traduz em fator prognóstico para a resposta clínica do paciente. A combinação da ingestão dietética reduzida e do metabolismo acelerado induz a depleção, apesar do aumento da produção endógena no músculo esquelético. Portanto, uma suplementação com glutamina permitiria restaurar a glutaminemia e reduzir as complicações infecciosas (COËFFIER; DÉCHELOTTE, 2004; COËFFIER; DÉCHELOTTE, 2005).

1.2.1 Glutamina e o Sistema Imune

Dados da literatura sugerem que a glutamina age na proteção tecidual, apresenta ação anti-inflamatória, regula o sistema imune, atua na preservação da função metabólica tecidual em situações de estresse e tem ação antioxidante (CALDER, 1994; NEWSHOLME; CALDER, 1997; WILMORE; SHABERT, 1998; NEWSHOLME *et al.*, 1999; WISCHMEYER, 2007; BONGERS; GRIFFITHS; McARDLE, 2007). É um aminoácido importante para o crescimento e a diferenciação celular, transporte de cadeia carbônica entre os órgãos e se comporta como substrato preferencial para as células de multiplicação rápida, como os eritrócitos, e células do sistema imune, macrófagos e linfócitos (WILMORE; SHABERT, 1998). Além destas funções, a glutamina atua como precursora de mediadores como GABA (ácido γ -aminobutírico), glutamato, na síntese de aminoácidos, nucleotídeos, ácidos nucléicos, açúcares aminados, proteínas e muitas outras moléculas biologicamente importantes (NEWSHOLME, 2001).

A glutamina funciona como o maior substrato energético das células imunes ativadas, aumenta a resposta linfocítica à estimulação de mitógenos e alivia a bacteremia e a endotoxemia, importante para prevenir a sepse (BANDT, 1996; CYNOBER, 2000). A elevada taxa de utilização de glutamina por linfócitos e macrófagos sugere que o fornecimento de glutamina pode ser importante para a manutenção da função imunológica (CALDER, 1994; NEWSHOLME; CALDER, 1997). A ativação de células, como os linfócitos T, é essencial para a manutenção de uma resposta imune adequada, contribuindo para prevenir a ocorrência de translocação bacteriana (SINGER; SMADJA, 2010). Tem ainda importância na gliconeogênese, síntese de uréia, homeostase do pH, neurotransmissão, diferenciação e crescimento celular (NEWSHOLME; CALDER, 1997).

A glutamina é usada em grande quantidade pelas células do sistema imune e existem evidências que as funções fundamentais destas células, testadas *in vitro*, são dependentes do seu fornecimento (CALDER, 1994). Em situações de estresse, o trato digestório é o principal órgão de consumo e de utilização de glutamina. Esta propriedade se deve a mucosa intestinal conter células secretórias, imunes e neuroendócrinas, além de inúmeros enterócitos absorptivos. Em resposta, o intestino percebe o ambiente nutricional e antigênico e atua na triagem imunológica e na defesa, assim como gera respostas endócrinas ao ambiente do lúmen (BURRIN *et al.*, 2000).

Portanto, a administração de glutamina ou seus precursores, pode ser uma estratégia benéfica para os pacientes graves cujo sistema imunológico esteja comprometido por situações de estresse, trauma e sepse, que contribuem para aumentar a susceptibilidade às infecções (CALDER, 1994; GRIFFITHS, 2001; ANDREWS; GRIFFITHS, 2002).

1.2.2 Glutamina e Resposta Inflamatória

A inflamação é uma resposta normal do hospedeiro contra os agentes infecciosos ou uma reação adaptativa do organismo a um dano localizado (BONE, 1991; CYNOBER, 2000). Na Sepse e na SIRS, a produção excessiva de mediadores inflamatórios e a excessiva ativação de células inflamatórias, resultam em uma anarquia metabólica, na qual “[...] o próprio organismo não consegue controlar o que ele mesmo criou” (BONE, 1991).

A resposta inflamatória à lesão e à infecção, embora seja uma parte essencial da função imunológica, acarreta riscos de destruição tecidual grave e imunossupressão (GRIMBLE, 2001).

Nos processos de lesão, a inflamação é uma resposta dos organismos vivos homeotérmicos ao dano sofrido. Esta resposta padrão é comum a vários tipos de tecidos vivos e é mediada através de substâncias chamadas prostaglandinas. As prostaglandinas causam uma maior permeabilidade capilar e também têm o poder de quimiotaxia, atraindo células como macrófagos, especializadas na fagocitose de restos celulares resultantes do processo inflamatório. Além disto, no processo inflamatório ocorre também um aumento do calibre dos capilares responsáveis pela irrigação sanguínea do local, resultando em uma estase vascular, caracterizando um sinal da inflamação (CARVALHO; TROTTA, 2003).

O paciente grave internado na UTI apresenta, pelo menos, falência de um órgão vital que o coloca em risco de vida e, geralmente, apresenta uma resposta catabólica exagerada, especialmente quando cursa com infecção, sepse ou uma resposta inflamatória sistêmica (VILA; GRAU, 2005). Esta resposta catabólica exagerada é consequência da liberação excessiva de mediadores inflamatórios, incluindo as citocinas, e são responsáveis por alterações metabólicas significativas (VREES; ALBINA, 2000).

As citocinas, também denominadas interleucinas, são mediadores que desempenham um papel primordial na resposta ao hospedeiro e são liberadas pelas células recrutadas para o foco infeccioso (BENJAMIM, 2001), predominantemente por macrófagos e linfócitos. Na resposta metabólica aos processos inflamatórios, às infecções e ao estresse

causado por traumas, o corpo está equipado com um conjunto de processos biológicos e agentes para enfrentar a invasão bacteriana. Inicia-se o processo de secreção de citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias, proteínas produzidas por vários tipos de células, especialmente monócitos e macrófagos (CECCON *et al.*, 2006)

As interleucinas são classificadas como pró-inflamatórias (Fator de Necrose Tumoral - TNF α , IL-1 e a IL-6) e anti-inflamatórias (IL-4, IL-10, Interferon- γ) que neutralizam os efeitos das pró-inflamatórias (CECCON *et al.*, 2006). As citocinas pró-inflamatórias (TNF α , IL-1, IL-2, e IL-6) são mediadores primários porque são produzidas pelo hospedeiro frente à invasão bacteriana e são os primeiros que aparecem na resposta, provocando efeitos em larga escala em muitos tecidos (SALLES *et al.*, 1999; CECCON *et al.*, 2006). A participação das citocinas IL-1, IL-2, IL-6 e TNF α , com função predominantemente inflamatória, é necessária para o início efetivo dos mecanismos de defesa contra a infecção (SÁNCHEZ *et al.*, 2005). O hospedeiro, para fazer frente ao processo infeccioso, produz citocinas anti-inflamatórias que neutralizam os efeitos das pró-inflamatórias, restabelecendo a homeostase (CECCON *et al.*, 2006).

Embora este processo seja influenciado pela resposta do paciente, para Grimble (1998) pode ser descrito em três fases: (1) criação de um ambiente hostil (por agentes patogênicos), (2) fornecimento de nutrientes para o sistema imunológico a partir de fontes endógenas (imunonutrição); e (3) reforço do controle e sistemas de proteção contra os danos causados ao tecido saudável, pela resposta imune (VREES; ALBINA, 2000; GRIMBLE, 1998; GRIMBLE, 2001). Os efeitos locais das citocinas, denominados efeitos parácrinos, envolvem o recrutamento de células fagocitárias, essenciais para eliminação do microrganismo invasor, enquanto que os efeitos sistêmicos causam danos ao hospedeiro (PEREIRA JÚNIOR *et al.*, 1998).

As IL-1, IL-6 e TNF α possuem propriedades semelhantes e podem ser consideradas em conjunto, como citocinas pró-inflamatórias. A IL-1 é produzida por monócitos ativados/macrófagos, células endoteliais, neutrófilos e linfócitos e pode atuar como um agente imunomodulador local ou pode exercer um efeito sistêmico levando a febre, aumento da produção de proteínas de fase aguda, alterações nas concentrações plasmáticas de minerais traços, anorexia, leucocitose ou leucopenia, hipotensão arterial, taquicardia, aumento do metabolismo de aminoácidos e aumento da concentração de lipídios plasmáticos (DROST *et al.*, 1993).

A excessiva produção de citocinas pró-inflamatórias como o TNF α , IL-1, IL-6 e IL-8 por células imunocompetentes pode induzir a SRIS e estas citocinas desempenham um

importante papel no desenvolvimento da síndrome do desconforto respiratório agudo e síndrome da falência múltipla de órgãos (ODA *et al.*, 2005).

A produção excessiva e prolongada de IL-1, especialmente em combinação com o TNF α , resulta em uma resposta predominantemente prejudicial, levando ao aumento da pró-atividade coagulante e permeabilidade do endotélio (DEMLING *et al.*, 1993).

O TNF α é uma citocina pró-inflamatória que estimula a produção de leucócitos, marginação e ativação. É responsável pelo aumento da permeabilidade vascular, hipotensão e choque, anorexia, perda de peso, febre e aumento da produção das proteínas da fase aguda (DEMLING *et al.*, 1993). Embora o TNF α não seja o único mediador que possa explicar a origem da sepse é o que mais reflete a resposta imune (BONE, 1991) e a sua produção é um elemento essencial na resposta inflamatória aguda ao trauma ou a sepse (PEREIRA JUNIOR *et al.*, 1998).

A IL-2 é uma citocina produzida pelos linfócitos T, age como um imunostimulante e aumenta os anticorpos. Estimula a proliferação de linfócitos T e tem capacidade de ativar as células mediadoras do sistema imune (RODRICK *et al.*, 1992).

A IL-6 tem sido classificada como uma citocina pró-inflamatória devido a sua secreção ser induzida por um grande número de estímulos como o TNF α e a IL-1 β . Esta produção é realizada por diversos tipos celulares entre os quais se destacam os monócitos e macrófagos ativados, os linfócitos T e B ativados, as células endoteliais e os fibroblastos (SÁNCHEZ *et al.*, 2005).

Entre as citocinas, a IL-6 é provavelmente o melhor marcador de gravidade do estresse causado ou não por processo infeccioso e induz uma ampla variedade de proteínas de fase aguda, tipo a proteína C-reativa (PCR), que limita a inflamação. A IL-6, a IL-1 e TNF α causam sua indução (ADIB-CONQUY; CAVAILLON, 2007; PRIETO *et al.*, 2008).

Coëffier *et al.* (2001) demonstraram *in vitro* a influencia da glutamina sobre a produção de citocinas pelo intestino humano e seus resultados sugeriram que a glutamina tem um efeito modulador sobre a produção das IL-6 e IL-8, o que pode ser considerado uma indicação preciosa do que poderia ser antecipado em uma situação de inflamação intestinal (COËFFIER *et al.*, 2001).

Ao avaliarem os efeitos da glutamina sobre a produção de citocinas pela IL-1 β induzida em intestino humano, a glutamina mostrou-se capaz de diminuir a produção de interleucinas pró-inflamatórias (IL-6 e IL-8) pela mucosa do duodeno e aumentar a produção da interleucina anti-inflamatória (IL-10), causando efeitos favoráveis na resposta intestinal humana (COËFFIER *et al.*, 2003).

Dependendo da resposta inflamatória que predomine, essa resposta pode causar efeitos deletéricos ao hospedeiro. Alterações mais brandas conduzem ao surgimento de desnutrição, com perda de massa magra muscular, que provoca deterioração das funções orgânicas e diminuição da resposta imune e da cicatrização. Pacientes em estado grave apresentam alterações como sepse, falência múltipla de órgãos e choque que podem conduzi-los a morte (CYNOBER, 2000).

Os estados inflamatórios induzem ao aumento das necessidades de certos nutrientes, particularmente de aminoácidos. A depleção corporal destes aminoácidos interfere na baixa da imunidade frequentemente encontrada em pacientes com processos inflamatórios (CYNOBER, 2000).

A presença da atividade inflamatória tem efeitos negativos significantes nas concentrações de glutamina em contraste com a presença ou ausência de depleção nutricional (HULSEWÉ *et al.*, 2004). Nestas condições, a lógica é se enriquecer a nutrição destes pacientes com certos aminoácidos com atividades farmacológicas, que pertencem à família dos farmaconutrientes, como a glutamina (CYNOBER, 2000; 2006).

1.2.3 Glutamina e Estresse Oxidativo

A produção de energia necessária para que ocorram os diferentes processos celulares precisa de oxigênio que, eventualmente, é reduzido à água, depois de aceitar quatro elétrons pela ação do complexo citocromooxidase da cadeia respiratória mitocondrial. O oxigênio molecular (O_2) tem dois elétrons emparelhados com spins paralelos, o que torna difícil a captura de dois elétrons simultaneamente nas reações envolvidas e explica a facilidade com que participa das reações univalentes. Normalmente, cerca de 2% de oxigênio é reduzido de forma incompleta ao aceitar um menor número de elétrons, dando origem a compostos intermediários instáveis chamados de espécies reativas de oxigênio (ERO). As ERO são capazes de escapar da mitocôndria e causar danos sobre as estruturas celulares, principalmente nas membranas, proteínas, lipídios e DNA (ANDRESEN; REGUEIRA; LEIGHTON, 2006).

Quando o O_2 é parcialmente reduzido pela recepção de dois elétrons produz o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e, quando o O_2 recebe apenas um elétron, produz o radical superóxido (O_2^-). O H_2O_2 não é considerado um verdadeiro radical livre por ter sua órbita

externa pareada. Entretanto, por ser uma substância altamente hidrossolúvel e facilmente penetrar na célula, age como precursor de outros radicais livres. Tanto o H_2O_2 como o O_2^- são muito tóxicos e causam lesão celular. Os radicais livres causam alterações na expressão genética, mutação e apoptose celular, alterações de cadeias protéicas e peroxidação lipídica e, conseqüentemente, trazem prejuízo ao transporte celular (ANDRESEN; REGUEIRA; LEIGHTON, 2006).

Os mecanismos que explicam o dano induzido pelos radicais livres são: a ativação do sistema monócito/macrófago e de neutrófilos, a ativação mitocondrial intracelular e o mecanismo de isquemia-reperfusão (ANDRESEN; REGUEIRA; LEIGHTON, 2006).

O estresse oxidativo é resultante de um desequilíbrio entre os oxidantes e os antioxidantes em favor dos oxidantes, causando, potencialmente, danos nos processos de doenças em seres humanos. Os oxidantes são formados como produtos normais do metabolismo aeróbico, mas podem ter sido produzidos, em elevadas taxas, sob condições fisiopatológicas. A defesa dos antioxidantes envolve diversas estratégias enzimáticas e não-enzimáticas. Na fase lipídica, tocoferóis, carotenos e oxi-carotenóides são de interesse, assim como a vitamina A. Na fase aquosa se tem o ascorbato, a glutathiona (GSH) e outros componentes (SIES, 1997).

O estresse oxidativo pode danificar muitas moléculas biológicas e, sem dúvida, as proteínas e o DNA são frequentemente, mais significativamente alvos da lesão, que os lipídios e os lipídios peroxidantes. Entretanto, um aumento da concentração de produtos finais da peroxidação lipídica é a evidência mais comumente citada pelo envolvimento de radicais livres na doença humana (HALLIWELL; CHIRICO, 1993).

A peroxidação lipídica é um mecanismo bem estabelecido de dano celular, ocorre em animais e plantas e é usada como um marcador do estresse oxidativo em células e tecidos (AMSTRONG; BROWNE, 1994; YAGI, 1998). O processo de peroxidação lipídica é iniciado pela reação de um radical livre com um ácido graxo poliinsaturado e propagado por radicais peroxilas, resultando na formação de hidroperóxidos lipídicos e aldeídos, tais como o malondialdeído, 4-hidroxinonenal e isoprostanos, que podem ser detectados em amostras biológicas e utilizados para se avaliar o estresse oxidativo (LIMA; ABDALLA, 2001).

A consequência mais estudada do estresse oxidativo é a peroxidação lipídica e este dano sobre os lipídios pode ser medido por meio da detecção no plasma ou na urina do Ácido Tiobarbitúrico (TBARS), que participa como marcador da peroxidação lipídica (ANDRESEN; REGUEIRA; LEIGHTON, 2006).

Uma das técnicas mais utilizadas para se avaliar as substâncias reagentes do TBARS é feita através da medida do Dialdeído Malônico (MDA). O MDA é um dialdeído formado como um produto secundário durante a oxidação de ácidos graxos poliinsaturados por cisão *beta* dos ácidos graxos poliinsaturados peroxidados, principalmente o ácido araquidônico, ocorre naturalmente e é produto da peroxidação lipídica (LIMA; ABDALLA, 2001). Níveis elevados de TBARS têm sido identificados em pacientes graves com sepse e falência múltipla de órgãos (AMSTRONG; BROWNE, 1994; YAGI, 1998).

A resposta do hospedeiro à infecção e outras formas de lesão tecidual é a SRIS que frequentemente vem acompanhada por estresse oxidativo em um ou mais sistemas orgânicos. Takeshi *et al.* (2003) observaram que pacientes com SRIS apresentam um aumento na peroxidação lipídica e no TBARS (TAKESHI *et al.*, 2003).

A glutamina é uma precursora da GSH (FÜRST; ALTEHELD; STEHLE, 2004) encontrada em concentrações elevadas nas células dos mamíferos, sendo considerado o mais potente antioxidante do organismo humano, capaz de neutralizar a ação de ERO (FLARING *et al.*, 2003).

A glutathione é o principal componente do sistema de defesa antioxidante em células vivas e exerce diversos efeitos sobre o sistema imune, estimulando ou inibindo a resposta imunológica, a fim de controlar a inflamação (PERRICONE; CAROLIS; PERRICONE, 2009).

A glutathione é um tiol onipresente contendo tripeptídeo que desempenha papel central na biologia celular. Está implicada na defesa celular contra xenobióticos e compostos naturais deletérios, como os radicais livres e os hidroperóxidos. A glutathione é um indicador muito sensível da funcionalidade e viabilidade das células e os seus níveis nos tecidos humanos normalmente variam de 0,1 a 10 mM, sendo a maioria concentrada no fígado (até 10 mM), no baço, rim, eritrócitos e leucócitos. Em humanos, sua depleção está relacionada à presença de doenças como câncer, doenças neurodegenerativas e cardiovasculares (PASTORE *et al.*, 2003).

As concentrações alteradas de GSH desempenham um importante papel em diversas condições clínicas, prevalentemente naquelas que mantêm respostas inflamatórias e imunológicas mediadas por reações de estresse oxidativo. Nestas situações, o fracasso do mecanismo de defesa antioxidante para manter o ritmo de regeneração oxidante geralmente se deve à diminuição da defesa antioxidante e aumento da geração de pró-oxidantes (PERRICONE; CAROLIS; PERRICONE, 2009).

A depleção de glutamina está relacionada a uma diminuição dos níveis de glutatona e a reposição pode ser realizada pela oferta exógena de glutamina (BONET; GRAU, 2007).

Estudo mostrou que a nutrição enteral ou parenteral suplementada com L-alanil-glutamina não afetou a capacidade antioxidante ou os marcadores do estresse oxidativo em pacientes adultos graves em UTI (LOU *et al.*, 2008).

1.2.4 Glutamina e Metabolismo Glicolítico

A glicose é um açúcar simples e se constitui no principal substrato oxidativo do corpo humano. A glicólise, um conjunto de reações catalisadas por enzimas específicas que ocorre no citoplasma das células, é o principal processo de utilização energética da glicose presente em todos os seres vivos, produzindo quase vinte vezes mais energia para os processos metabólicos intracelulares (WAITZBERG, 2009).

Primariamente, a glicólise é um processo anaeróbico onde se observa a formação de um produto final estável, o lactato e, em condições de aerobiose, o metabolismo da glicose prossegue com as demais vias produtoras de energia (Ciclo de Krebs e cadeia respiratória). Entretanto, este processo ocorre somente se a célula possuir mitocôndrias funcionais. Enquanto na mitocôndria ocorre a glicólise aeróbica, no citosol ocorre a glicólise anaeróbica (WAITZBERG, 2009).

Fisiologicamente, quando a glicemia aumenta, o pâncreas secreta insulina que bloqueia a produção hepática de glicose e estimula sua entrada e estocagem no fígado, músculos e tecido adiposo. Por isso é crucial conhecer as vias metabólicas da glicose envolvidas nas situações de estresse e averiguar suas consequências sobre as funções celulares (LOSSER; DAMOISEL; PAYEN, 2009).

A hiperglicemia, frequentemente encontrada nos pacientes graves, historicamente, era vista como uma resposta normal ao estresse e o tratamento não era iniciado, a não ser que a taxa de glicose estivesse entre 200 e 250mg/dL. As evidências têm mostrado que a hiperglicemia está associada aos piores resultados entre os pacientes internados, cirúrgicos ou clínicos, em UTI. Nesta população, a hiperglicemia se desenvolve principalmente devido à gliconeogênese, resistência insulínica (DIGMAN; BORTO; NASRAWAY Jr, 2005), aumento

da atividade dos hormônios contra-reguladores de insulina, ação das citocinas, intervenções clínicas e pela existência de certa intolerância a glicose (VAN DEN BERGH *et al.*, 2006).

Na ausência de diabetes, a hiperglicemia em pacientes graves está, provavelmente, relacionada à hiperglicemia induzida pelo estresse, denominada “diabetes do estresse”, a qual durante algum tempo foi considerada como uma resposta adaptativa ao estresse. Uma variedade de fatores, incluindo a produção excessiva de mediadores inflamatórios, hormônios contra-reguladores como as catecolaminas, glicocorticóides, glucagon, hormônio do crescimento e a liberação excessiva de citocinas como IL-1 e IL-6, e TNF α , componentes como medicações e terapia nutricional contribuem para a ocorrência da hiperglicemia induzida pelo estresse (McCOWEN; MALHOTRA; BISTRAN, 2001).

A hiperglicemia é comum na sepse, mesmo nos pacientes não diabéticos, e é multifatorial, causa estresse oxidativo, lesão endotelial, aumenta o rolamento de neutrófilos, aumenta a inflamação, tem ação pró-inflamatória e imunossupressora. A resistência insulínica também é observada na sepse e, geralmente, também ocorre devido aos efeitos da IL-6, TNF α e proteína-C reativa (KUMAR; LEAPER, 2005).

Durante a sepse o receptor anormal de insulina e o pós-receptor também contribuem para a resistência insulínica e o descontrole da gliconeogênese. O mecanismo pelo qual a sepse induz estas anormalidades é ainda desconhecido, embora a responsabilidade possa ser atribuída à produção elevada de citocinas (DIGMAN; BORTO; NASRAWAY Jr, 2005).

Um estudo mudou a visão sobre a hiperglicemia em pacientes graves e mostrou que o controle da glicemia destes pacientes tem impacto sobre a morbimortalidade (VAN DEN BERGHE *et al.*, 2001). Em estudo prospectivo, randomizado, controlado, Van den Berghe *et al.* (2001) descreveram a resposta de 1548 pacientes em ventilação mecânica à terapia intensiva insulínica comparado ao monitoramento tradicional da glicose sanguínea. Os autores hipotetizaram que a hiperglicemia predisponha os pacientes graves a apresentarem mais complicações como infecções, polineuropatias e falência múltipla de órgãos. Assim, separaram dois grupos de estudo: um grupo foi tratado com terapia insulínica e o outro com monitoramento normal da glicose sanguínea. Pacientes em terapia insulínica (46%) apresentaram menos ocorrência de sepse e ficaram menos tempo internados na UTI (22%) que os que estavam em terapia convencional (VAN DEN BERGHE *et al.*, 2001). Em um segundo estudo Van den Berghe *et al.* (2006) constataram que a terapia insulínica foi capaz de reduzir as taxas de morbidade em UTI (VAN DEN BERGHE *et al.*, 2006).

Preiser *et al.* (2008) mostraram que a hiperglicemia favorece o desenvolvimento de infecções, as quais darão origem a uma resposta séptica mediada pelas citocinas pró-inflamatórias e pelos hormônios contra-insulínicos, que irão notadamente modificar o metabolismo intermediário da glicose, ou seja, a hiperglicemia pode acentuar a resposta séptica (PREISER; DEVOS, 2008).

Em contrapartida ao uso de terapia com insulina exógena, algumas pesquisas revelaram que a terapia nutricional suplementada com glutamina pode atenuar a resistência insulínica e a subsequente hiperglicemia observada após ocorrência de doenças graves. Estudos clínicos usando a glutamina, conduzidos em pacientes graves (LI; BUETTGER; KWAGH, 2004; DECHELOTTE *et al.*, 2006) e politraumatizados (BAKALAR *et al.*, 2006), mostraram uma redução das complicações infecciosas e melhor tolerância metabólica, identificadas no menor número de pacientes que precisaram de terapia insulínica. Os resultados destes estudos sugerem que, provavelmente, é razoável aceitar o efeito benéfico que a glutamina, em forma de dipeptídeo, tem sobre o metabolismo da glicose insulino-dependente.

Trabalho experimental também demonstrou efeito pró-glicolítico do dipeptídeo L-alanil-glutamina quando ofertado em dose nutracêutica (ALVES *et al.*, 2005).

Alves *et al.* (2010) demonstraram que a infusão de L-alanil-glutamina em dose nutracêutica de 50g durante 3 horas no período imediatamente anterior a cirurgia promoveu redução de lactato desidrogenase (LDH) e lactato, indicando aumento da oxidação de glicose no membro sujeito a isquemia/reperfusão em pacientes portadores de isquemia crítica de membros inferiores (ALVES *et al.*, 2010).

1.2.5 Glutamina e Barreira Intestinal

A função da barreira intestinal repousa sobre uma relação de equilíbrio: de uma parte, sobre a proliferação e a apoptose das células epiteliais intestinais (enterócitos) e de outra parte sobre a síntese protéica e a proteólise, mas igualmente sobre a manutenção da funcionalidade das junções dos enterócitos, as chamadas junções fechadas (COËFFIER; DÉCHELOTTE, 2009).

A mucosa intestinal desempenha um papel-chave na função da barreira atuando contra a disseminação sistemática de bactérias e endotoxinas intraluminais. Entretanto,

durante estados de dano extremo, a sua integridade anatômica e funcional se altera, abrindo caminho para a translocação bacteriana e, conseqüentemente, sepse e falência múltipla de órgãos (FRANCIS; MICHEL, 2000).

A translocação bacteriana é definida como a passagem de bactérias endógenas viáveis do trato gastrointestinal para sítios extra-intestinais, como o complexo linfonodomesentéricos, fígado, baço e sangue (BERG, 1995). Dentre os fatores implicados nesse fenômeno estão os déficits nutricionais constantes durante situações clínicas graves (FRANCIS; MICHEL, 2000), alterações na microflora gastrointestinal normal causando supercrescimento bacteriano, ruptura física da barreira da mucosa intestinal por lesão direta nos enterócitos, facilitando a penetração da mucosa intestinal (radiação, toxinas), redução do fluxo sanguíneo do intestino e, finalmente, uma resposta local ou sistêmica que pode causar deficiências no acolhimento das defesas imunológicas e aumento da permeabilidade ou danos à barreira da mucosa intestinal (BERG, 1995; WIEST; RATH, 2003).

O aumento da translocação bacteriana pode ocorrer em indivíduos saudáveis e em várias populações de pacientes, desde aqueles com doenças mais brandas até os mais graves (WIEST; RATH, 2003). Estudos mostram que algumas situações clínicas graves como as queimaduras (LEVOYER *et al.*, 1992), trauma (PAPE *et al.*, 1994), cirurgias (SEDMAN; MACFIE; SAGAR, 1994) e falência cardíaca (NIEBAUER; VOLK; KEMP, 1999) contribuem para aumentar a translocação bacteriana.

A diminuição da permeabilidade da barreira intestinal e a conseqüente prevenção da translocação bacteriana pode ser realizada por meio de algumas abordagens terapêuticas como nutrição enteral e imunonutrição (FRANCIS; MICHEL, 2000; WIEST; RATH, 2003; COËFFIER; TAMION; DÉCHELOTTE, 2009). A imunonutrição pode ser definida como a modulação de qualquer atividade do sistema imune, ou modulação das conseqüências da ativação do sistema imune, por nutrientes ou itens alimentares específicos administrados em quantidades superiores as encontradas na dieta (GRIMBLE, 2001; 2008).

A depleção nutricional de glutamina tem sido associada à diminuição das concentrações de glutamina no plasma e mucosa e ao aumento da permeabilidade intestinal. Ao estudarem a concentração plasmática de glutamina e os parâmetros nutricionais de 26 pacientes em terapia nutricional parenteral, Hulsewé *et al.* (2004) demonstraram que a atividade inflamatória tem efeito negativo significativo sobre as concentrações plasmáticas de glutamina, em contraste com a presença ou ausência de depleção nutricional (HULSEWE *et al.*, 2004).

A glutamina é um aminoácido imunomodulador capaz de manter a integridade intestinal (FRANCIS; MICHEL, 2000) e estimular a proliferação *in vivo* e *in vitro* dos eritrócitos, diminuindo a apoptose (RHOADS *et al.*, 1997; KANDIL *et al.*, 2000; RHOADS *et al.*, 2000). Estudos demonstraram que a glutamina pode estimular a síntese protéica em nível da mucosa intestinal no homem (COËFFIER *et al.*, 2003; COËFFIER; TAMION; DÉCHELOTTE, 2009). A administração de glutamina por via intravenosa ou oral e nas doses recomendadas, antes ou imediatamente após a cirurgia, queimaduras, ou a administração de nutrição parenteral, mostraram um efeito protetor que impediu ou reduziu a intensidade do aumento da permeabilidade intestinal, mantendo a barreira fisiológica intestinal e reduzindo a frequência de infecções (DE-SOUZA; GREENE, 2005).

1.3 Nutrição Enteral e Imunonutrientes em UTI

A dieta é uma ferramenta terapêutica que pode modular resultados em saúde, melhorando os indicadores clínicos e bioquímicos alterados pela doença. A nutrição enteral é uma destas ferramentas e consiste em formulações usadas quando os pacientes apresentam alterações patológicas que impedem a alimentação normal pela via oral e, conseqüentemente, a absorção dos nutrientes (JEEJEEBHOY, 2005).

O objetivo primário da intervenção nutricional é prover as calorias e substratos necessários e, em seguida, restaurar as respostas metabólica e imune para melhorar a defesa do hospedeiro e facilitar a recuperação. A nutrição enteral é a via preferida normalmente recomendada para se alimentar pacientes seriamente doentes, porque estes pacientes apresentam seus requerimentos nutricionais aumentados e, frequentemente, estão em estado catabólico, o que pode provocar disfunção de órgãos (JEEJEEBHOY, 2005). Adicionalmente, a depleção de nutrientes específicos como a arginina, minerais e glutamina também é comum nestes pacientes. Estudos têm demonstrado que a resposta inflamatória sistêmica, resultante de cirurgias, traumas e infecções pode causar um aumento das demandas metabólicas nos pacientes graves e levar a um esgotamento das reservas de nutrientes essenciais (GRIMBLE, 2008).

Nas últimas décadas a nutrição enteral tem emergido como um componente vital no cuidado do paciente grave. O suprimento nutricional é vital para as células dos substratos,

provê antioxidantes, vitaminas e minerais que otimizam a recuperação da doença (MARIK; ZALOGA, 2001).

Alguns estudos sugerem que a nutrição enteral precoce em pacientes graves pode contribuir para reduzir as complicações provenientes de quadros sépticos ou não-sépticos, melhorar a resposta dos pacientes, diminuir as infecções, reduzir tempo de internação e custo hospitalar (JOLLIET *et al.*, 1999; MARIK; ZALOGA, 2001; GRAMLICH *et al.*, 2004; HOWARD, 2009).

Conejero *et al.* (2002) investigaram o efeito da nutrição enteral enriquecida com glutamina sobre a permeabilidade intestinal, morbidade infecciosa e mortalidade de pacientes graves que desenvolveram a SRIS após um evento agudo e concluíram que a nutrição enteral enriquecida com glutamina foi capaz de reduzir as infecções hospitalares destes pacientes (CONEJERO *et al.*, 2002).

A nutrição enteral é o método preferido para se alimentar pacientes graves internados em UTI que estão com o trato gastrointestinal funcionando. Diversos substratos com efeitos imunomoduladores são adicionados, sozinhos ou combinados, às dietas enterais padrões, na tentativa de modificar a resposta imune destes pacientes (KIEFT *et al.*, 2005). Estes nutrientes-chave são chamados imunonutrientes e desempenham um papel importante na regulação da resposta imunológica e inflamatória. Dentre estes nutrientes destacam-se a arginina, os nucleotídeos, os ácidos graxos poliinsaturados e a glutamina (SCHLOERB, 2001).

Dietas enterais enriquecidas com farmaconutrientes são também chamadas de dietas de reforço imune. Considerando os efeitos benéficos e a ausência de efeitos prejudiciais, o uso de dietas enterais enriquecidas com imunonutrientes tem sido recomendado para pacientes gravemente enfermos internados em UTI necessitando de nutrição enteral porque este tipo de alimentação parece ter um efeito na modulação do sistema imune destes pacientes (MONTEJO *et al.*, 2003; HASENBOEHLER *et al.*, 2006).

A glutamina pode agir como um farmaconutriente em doses nutracêuticas de 10 a 50g/dia e apresenta, nestas condições, funções metabólicas específicas e importantes, especialmente em condições de lesões como infecções ou ferimentos ou nos casos de doenças com processos catabólicos e SRIS (CYNOBER, 2001; NEWSHOLME, 2001; KARINCH *et al.*, 2001; GARCÍA-DE-LORENZO *et al.*, 2003). Ademais, a rápida depleção plasmática de glutamina, comum em pacientes gravemente enfermos, parece justificar a necessidade de reposição pela suplementação (VAN DER HULST *et al.*, 1994).

Dietas enterais enriquecidas com glutamina são bem toleradas, melhoram aspectos imunológicos em pacientes politraumatizados e reduzem os custos hospitalares com pacientes graves (GARCÍA-DE-LORENZO *et al.*, 2003).

A suplementação com glutamina pode estar associada à redução de complicações infecciosas, estresse oxidativo e taxas de mortalidade em pacientes graves e naqueles que desenvolvem SIRS (COËFFIER; TAMION; DÉCHELOTTE, 2009; COËFFIER; DÉCHELOTTE, 2009). Entretanto, muitos destes benefícios foram observados em pacientes que receberam doses nutracêuticas de glutamina por meio de nutrição parenteral (CONEJERO *et al.*, 2002; NOVAK *et al.*, 2002; ZHI-MING; JIANG; FÜRST, 2004; COËFFIER; TAMION; DÉCHELOTTE, 2009; FÜRST, 2009).

As ações benéficas da glutamina em pacientes graves se explicam por meio de vários mecanismos que mostram que a glutamina pode ser considerada um componente dietético essencial porque melhora o sistema imune, aumenta as proteínas de choque térmico, promove uma diminuição da resistência insulínica e da resposta inflamatória, e ainda, aumenta as defesas antioxidantes. Estes mecanismos foram demonstrados por meio de estudos clínicos e experimentais nas últimas duas décadas e descritos em estudo de revisão recente (COËFFIER; DÉCHELOTTE, 2009).

Não existem evidências ou relatos sobre efeitos adversos e negativos atribuídos a suplementação de glutamina e, alguns estudos, mostram a segurança de uso deste aminoácido em dose nutracêutica (ZIEGLER *et al.*, 1990; JIANG *et al.*, 1999; GARCÍA-DE-LORENZO *et al.*, 2003; SENKAL *et al.*, 2004; WERNERMAN, 2008; ROTH, 2008; MCQUIGGAN *et al.*, 2008; GALERA *et al.*, 2010).

Para avaliar os efeitos da glutamina em doses nutracêuticas, García-de-Lorenzo *et al.* (2003) analisaram diversos estudos e constataram que a suplementação de glutamina via enteral em doses nutracêuticas mostrou-se segura, com boa tolerância clínica e nenhum efeito adverso foi encontrado em todas as doenças revisadas. Portanto, não existem restrições ou contra-indicações para o uso de glutamina em doses nutracêuticas (GARCÍA-DE-LORENZO *et al.*, 2003).

A ingestão de dose nutracêutica de 20 a 30g/dia de glutamina, iniciação precoce da dieta e a manutenção da mesma por 5 dias ou mais, também são recomendadas (GARCÍA-DE-LORENZO *et al.*, 2003). Senkal *et al.* (2004) avaliaram os efeitos metabólicos e a tolerância gastrointestinal de um suplemento enteral enriquecido com 30g de glutamina em 20 pacientes com câncer e não encontraram nenhum efeito adverso ou intolerância gastrointestinal (SENKAL *et al.*, 2004).

Segundo Roth (2008), como a glutamina apresenta uma alta rotatividade (turnover), a administração diária de 30g pode ser feita sem quaisquer efeitos colaterais importantes (ROTH, 2008).

Galera *et al.* (2010) avaliaram a segurança da administração oral de L-glutamina em dose nutracêutica de 30g/dia, por um período de 14 dias, em indivíduos saudáveis de meia idade e idosos e também não encontraram nenhum efeito clinicamente importante, chamando atenção apenas para a necessidade de um controle permanente da função renal nesta população (GALERA *et al.*, 2010).

Diante destas possibilidades e com base nos achados da literatura, o presente estudo tem por objetivo avaliar a nutrição enteral suplementada com L-glutamina, em doses nutracêuticas e sua ação sobre o processo inflamatório, o metabolismo glicolítico, a função imune e o estresse oxidativo de pacientes com Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica.

2 OBJETIVO

Avaliar o efeito da nutrição enteral suplementada com L-glutamina e sua ação sobre o processo inflamatório, o metabolismo glicolítico, o sistema imune e o estresse oxidativo de pacientes com Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica (SRIS).

3 MÉTODO

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Walter Cantídio da Universidade Federal do Ceará, no dia 04 de dezembro de 2006 (ANEXO A) com anuência da Direção Técnico-Científica da Casa de Saúde e Maternidade São Raimundo (APÊNDICE A) e foi conduzido em conformidade com a legislação brasileira, descrita na Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde do Brasil, seguindo a Declaração de Helsinque e suas revisões posteriores.

Para o paciente participar do estudo foi realizado um contato pessoal com o seu médico e a sua família ou responsável, no referido hospital, quando se explicou, detalhadamente, o objetivo do estudo e os procedimentos utilizados na pesquisa, prestando todos os esclarecimentos a respeito da glutamina, sequência dos procedimentos, coleta de sangue, suplementação pela nutrição enteral, dose nutracêutica, dias de suplementação e os efeitos esperados sobre o paciente.

A permissão para realização do estudo foi obtida dos familiares e do médico, diretamente responsáveis pelo paciente, mediante assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE B) previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Walter Cantídio da Universidade Federal do Ceará e com anuência da Direção Técnico-Científica do Casa de Saúde e Maternidade São Raimundo (ANEXO A e APÊNDICE A).

Os dados referentes às características demográficas e de saúde da amostra foram coletados por meio de ficha específica de identificação que registrou informações a respeito da idade, sexo, endereço, médico responsável, familiar responsável, diagnóstico, APACHE II, morbidade referida, infecções presentes, tipo de dieta, exames laboratoriais realizados, intercorrências clínicas, datas das intervenções com os suplementos utilizados no estudo (APÊNDICE C).

A coleta de dados de cada paciente se iniciou após o consentimento prévio do médico e familiares ou responsáveis pelo paciente mediante assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE B) e a participação dos pacientes no estudo foi voluntária, não envolvendo riscos à saúde dos mesmos.

3.1 Tipo de Estudo

Trata-se de um estudo clínico prospectivo, randomizado, controlado, duplo-cego, cruzado, pelo qual foi avaliado o efeito da nutrição enteral suplementada com L-glutamina, na dose nutracêutica de 30g/dia e sua ação sobre os marcadores inflamatórios, do metabolismo glicolítico, da função imune e do estresse oxidativo de 30 pacientes adultos e idosos, moderadamente graves internados em UTI.

O estudo cruzado (crossover trial) é um tipo de ensaio clínico muito utilizado em estudos clínicos envolvendo seres humanos, onde se comparam duas intervenções nas quais os participantes, depois de completar um dos tratamentos, são movidos para outro tratamento e apresenta como vantagem controle sobre possíveis vieses (ESCOSTEGUY, 1999).

Para a comparação, como foi realizada no presente estudo, se utilizou na intervenção dois suplementos A e B, metade dos participantes foi designada aleatoriamente para recebê-los na ordem A, B e metade na ordem B, A. Devido ao tempo de tratamento ter sido de dois dias para cada suplemento, a ordem A, B se estendeu para AA BB, e a ordem B, A se estendeu para BB AA, com um intervalo de um dia entre as duas ordens.

3.2 Local do Estudo

Este estudo foi realizado na Casa de Saúde e Maternidade São Raimundo, situado no município de Fortaleza, Ceará, que tem como peculiaridade prestar atendimento médico-nutricional a população de Fortaleza e demais municípios do estado do Ceará. A clientela é composta de pacientes com convênios de saúde ou dotados de cobertura do Sistema Único de Saúde (SUS).

3.3 Participantes

Durante 14 meses, entre 28 de fevereiro de 2008 e 20 de abril de 2009, 186 pacientes admitidos na UTI da Casa de Saúde e Maternidade São Raimundo foram avaliados. Após avaliação, 36 pacientes foram selecionados, considerando os que preencheram os critérios de inclusão e cujos médicos e familiares, ou responsáveis, permitiram que participassem do estudo. Dos 36 pacientes selecionados e acompanhados que iniciaram o

estudo, 06 não concluíram o tratamento porque morreram. Os 30 pacientes que participaram integralmente do estudo eram indivíduos adultos e idosos de ambos os sexos, moderadamente graves, apresentando a Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica, fazendo uso de nutrição enteral e distribuídos randomicamente nos dois grupos, A e B.

3.3.1 Critérios de Inclusão, Exclusão e Retirada

Critérios de Inclusão

- Pacientes com diagnóstico de SRIS, hemodinamicamente estáveis e sem uso de drogas vasopressoras
- Pacientes requerendo terapia nutricional enteral
- Pacientes adultos e idosos de ambos os sexos
- Pacientes com APACHE II $> 10 < 20$
- Concordância por meio da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido pelo médico e familiar/responsável pelo paciente

Critérios de Exclusão

- Paciente com choque séptico
- Paciente com diabetes *mellitus*
- Paciente com insuficiência renal aguda ou crônica
- Paciente com insuficiência hepática
- Pacientes cardiopatas
- Pacientes fazendo uso de drogas vasopressoras

Critérios de Retirada

- Vontade do médico ou familiar/responsável pelo paciente, por alguma razão ou sem relatar a razão
- Interrupção da terapia nutricional enteral
- Paciente com necessidade de fazer uso de drogas vasopressoras

Os critérios de inclusão, exclusão e retirada foram perseguidos e observados no decorrer da pesquisa. Os pacientes foram continuamente reavaliados durante os cinco dias do estudo considerando-se a sua evolução clínica, os dados registrados no seu prontuário, parecer

e observações dos médicos e enfermeiros plantonistas, com a finalidade de observar qualquer modificação que pudesse ocorrer. No decorrer do estudo os pacientes foram acompanhados pelo investigador principal, que também manteve um intercâmbio estreito com o seu médico e seus familiares a fim de obter informações, esclarecer dúvidas ou quaisquer outras observações referidas ao estudo realizado. Pelo estado em que se encontravam, os pacientes não tinham autonomia para se reportar ao investigador principal, sendo a família e o médico detentores desta responsabilidade.

3.3.2 Critério Diagnóstico da SRIS

O critério diagnóstico utilizado seguiu as recomendações estabelecidas pelo “American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference” (1992) e revisadas posteriormente na Conferência Internacional de Definição da Sepsis (LEVY *et al.*, 2003), as quais estabelecem as condições clínicas da SRIS. Por este critério, a SRIS se manifesta quando ocorre duas ou mais das condições clínicas descritas nas recomendações: temperatura $> 38^{\circ}\text{C}$ ou $< 36^{\circ}\text{C}$; frequência cardíaca > 90 batimentos/minuto; frequência respiratória > 20 movimentos/minuto; contagem de leucócitos $> 12.000/\text{mm}^3$ ou $< 4.000/\text{mm}^3$ ou bastonetes $> 10\%$ e proteína C-reativa no plasma $> 2\text{DP}$ (Desvio Padrão) do valor normal (BONE, 1991; PEREIRA JÚNIOR *et al.*, 1998; ACCP/SCCM CONSENSUS CONFERENCE, 1992; LEVY *et al.*, 2003).

Os pacientes foram definidos pela evidente ou esperada necessidade de receberem terapia nutricional enteral baseada no julgamento do critério clínico. Também foram avaliados pelo critério de admissão do score APACHE II $> 10 < 20$ (KNAUS *et al.*, 1985), realizado nas primeiras 24 horas de internação. O score APACHE II $> 10 < 20$ foi considerado estado moderadamente grave para o paciente portador de SRIS e foi usado no presente estudo por causa de sua objetividade e pela sua capacidade de julgar o estado gravidade dos pacientes evolvidos no estudo.

Para calcular o score APACHE utilizou-se o programa Apache II Calculation, disponível no site <http://www.sfar.org/scores2/apache22.html>.

3.4 Suplementos

Os suplementos utilizados foram o aminoácido L-Glutamina (AJINOMOTO, BRASIL Ajinomoto Interamericana Indústria e Comércio Ltda – São Paulo/Brasil) e o Caseinato de Cálcio (Kerry do Brasil Ltda, Três Corações – MG/Brasil) (ANEXO B). O Caseinato de Cálcio se apresenta na forma de cristais de pó cristalino branco, obtido de proteína de leite em pó tratada com monoleato de glicerila de grau alimentício (ANEXO C).

Os dois suplementos foram utilizados em doses nutracêuticas de 30g/dia, adicionados a um litro do produto Nutri Enteral® (Nutrimed, Fortaleza – CE/Brasil) (ANEXO D). O produto Nutri Enteral® é um alimento nutricionalmente completo, usado para nutrição enteral ou oral, comercialmente disponível, contendo 50g de proteínas, 175g de carboidratos e 33g de lipídios, fornecendo 1,2kcal por cada 1ml de dieta. Cada 1000ml de dieta fornecia ao paciente 1200kcal, distribuídas em 200kcal protéicas, 700kcal de carboidratos, 297kcal de gorduras e 8g de nitrogênio (gN), com uma relação de calorias não protéicas/gN de 125:1.

Quando acrescido do suplemento, L-Glutamina ou Caseinato de Cálcio, este produto mudou o perfil de macronutrientes e passou a conter mais 120kcal provenientes do acréscimo protéico dos suplementos. Assim, o Nutri Enteral® acrescido de 30g de proteína provenientes dos suplementos L-Glutamina ou Caseinato de Cálcio forneceu 80g de proteína, 175g de carboidratos, 33g de lipídios e densidade calórica de 1,32kcal/ml de dieta. Este acréscimo na densidade calórica ocorreu somente nos 4 dias de suplementação. Durante a pausa temporal (washout period) os pacientes receberam apenas as calorias provenientes do produto Nutri Enteral®, descritas previamente.

A utilização do aminoácido L-Glutamina na forma livre requer alguns cuidados devido a sua instabilidade, especialmente durante o procedimento de esterilização, estocagem prolongada e por apresentar solubilidade limitada (36g/L de H₂O em 20°C) (FÜRST; ALTEHELD; STEHLE, 2004). Essas dificuldades foram contornadas com o envase adequado da dieta líquida pronta para uso, adição da L-glutamina em pó, distribuição ágil e apropriada.

3.5 Desenho do Estudo (Figura 1)

Casa de Saúde e Maternidade São Raimundo – 30 pacientes

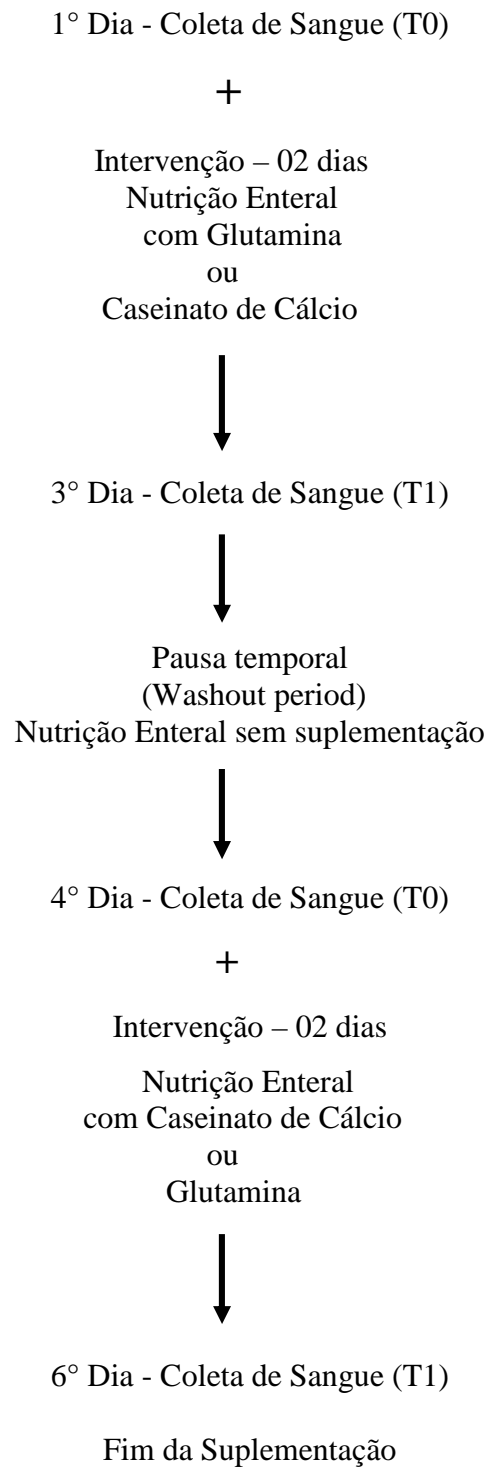


FIGURA 1: Desenho do Estudo

3.5.1 Avaliação Cega

A justificativa para essa técnica reside no potencial para viés que ocorre quando todas as pessoas envolvidas no ensaio conhecem qual é o tratamento que o paciente está recebendo. Quanto à condição cega, há três participantes a serem considerados, o paciente, o profissional que aplica e o que avalia o tratamento. O termo duplo-cego se refere aqueles ensaios nos quais nem o paciente nem aqueles responsáveis pela sua assistência e avaliação conhecem qual o tratamento que ele está recebendo (ESCOSTEGUY, 1999). Neste estudo, o profissional que aplicou o tratamento foi o mesmo que avaliou o tratamento. Neste caso o termo duplo-cego está adequado.

Os suplementos utilizados foram separados e pesados em empresa especializada, por uma engenheira de alimentos, não envolvida diretamente no cuidado dos pacientes, sendo o único profissional que manuseou os insumos da suplementação e que tinha conhecimento do conteúdo de cada frasco. Após a pesagem em balança analítica (Balança Micronal® MOD B - 4000/capacidade 4Kg) com sensibilidade para pesar até 1 grama, os suplementos foram condicionados em frascos plásticos brancos, opacos, lacrados e identificados com as letras A ou B, seguindo a identificação gerada na tabela de randomização realizada por um estatístico. Somente foram conhecidos os conteúdos dos frascos (Glutamina ou Caseinato de Cálcio) ao final do estudo.

3.5.2 Procedimento de Randomização

A randomização foi pareada, na qual inicialmente são formados pares de participantes e a alocação aleatória é feita no interior do par, de tal forma que um indivíduo receba o tratamento em estudo e o outro, o controle (ESCOSTEGUY, 1999). Como se trata de um estudo cruzado, cada indivíduo alocado foi controle dele mesmo.

O processo de randomização seguiu o procedimento da dissimulação no qual o pesquisador, o participante ou outra pessoa envolvida diretamente no cuidado do paciente não souberam a qual grupo o paciente pertencia, ou seja, qual suplemento o paciente estava tomando. A randomização da amostra foi realizada por meio do programa do Laboratório de Epidemiologia e Estatística (LEE) do Instituto Dante Pazzanese, disponível no site

www.lee.dante.br, de domínio público, utilizando-se a identificação de letras A e B para os suplementos em estudo.

3.5.3 Grupos Estudados

Os 30 participantes do estudo foram randomicamente alocados em dois grupos: Glutamina (AA) e Caseinato de Cálcio (BB). Os participantes do grupo AA-BB receberam primeiramente a Glutamina por dois dias. Após uma pausa temporal de um dia receberam o Caseinato de Cálcio por mais dois dias (Figura 1).

Os participantes do grupo BB-AA receberam primeiramente o Caseinato de Cálcio por dois dias. Após uma pausa temporal de um dia receberam a Glutamina por mais dois dias. Ao final do estudo, para fins de elaboração dos bancos de dados e para análise estatística, foram considerados como Grupo Glutamina todos os indivíduos que receberam suplementação de glutamina (A) no primeiro ou no segundo tempos e Grupo Caseinato (B) todos os indivíduos que receberam suplementação de caseinato de cálcio no primeiro ou no segundo tempos, considerando a escolha de identificação dos suplementos (letras A e B), seguindo a identificação gerada na randomização (Figura 1).

3.5.4 Tempos Avaliados

Para a realização das coletas de amostras de sangue foram considerados os tempos T0 e T1. O T0 (tempo zero) foi o tempo imediatamente antes da suplementação e o T1 (tempo um), o tempo imediatamente após a suplementação, tanto para a glutamina quanto para o caseinato de cálcio. Ao iniciar a intervenção foram realizadas 4 coletas: 1º dia (T0) antes da suplementação, 3º dia (T1) após a suplementação. Após período de pausa temporal (washout period) iniciou-se o segundo tempo de coletas, 4º dia (T0) antes da suplementação, 6º dia (T1) após a suplementação (Figura 1).

3.6 Desfechos Clínicos

Foram analisados os seguintes parâmetros: hematócrito, leucócitos, linfócitos, monócitos, monócitos, uréia, creatinina, pré-albumina, glicose, lactato, peptídeo-C (indicador da secreção de insulina), insulina, interleucinas (IL-1, IL-6, IL-10), TNF α (Fator de Necrose Tumoral), TBARS (ácido tiobarbitúrico), glutathiona total, glutamina e glutamato.

3.7 Procedimentos de Coleta de Dados

Para a avaliação dos parâmetros bioquímicos foram dosados: hematócrito, leucócitos, linfócitos, monócitos, uréia, creatinina, glicose, lactato e pré-albumina.

Para a avaliação dos efeitos da nutrição enteral suplementada com L-glutamina sobre o processo inflamatório foram avaliadas as concentrações séricas das citocinas IL-1, IL-6, IL-10 e TNF α .

Para a avaliação dos efeitos da nutrição enteral suplementada com L-glutamina sobre o metabolismo glicolítico foram avaliados a glicose, lactato, peptídeo-C e insulina.

Para a avaliação dos efeitos da nutrição enteral suplementada com L-glutamina sobre o estresse oxidativo foram avaliados a glutathiona total e TBARS.

Para a avaliação dos efeitos da nutrição enteral suplementada com L-glutamina sobre os níveis plasmáticos dos aminoácidos foram avaliados: glutamina e glutamato.

Os exames laboratoriais foram realizados no Laboratório Evandro Chagas, localizado no edifício da Casa de Saúde e Maternidade São Raimundo, cadastrado sob nº 2529157 na Agência Nacional de Saúde (ANS), no Laboratório de Diagnóstico do Setor de Parasitologia do Departamento de Patologia e Medicina Legal da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará e no Laboratório Central Analítica Farmacêutica da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Ceará.

As amostras de sangue foram coletadas utilizando manguito de látex, seringas de 10ml e 20ml, agulhas descartáveis e escalpes. Imediatamente após a coleta, o sangue foi armazenado em tubos individuais pré-selecionados. As amostras foram dispostas em alíquotas menores em tubos eppendorf com capacidade de 2ml e 4ml que foram centrifugados por 100 x g máximo durante 15 minutos a 4°C. O soro e o plasma obtidos foram estocados em freezer

a -80°C até serem utilizados nas análises previstas, descritas detalhadamente nos subitens que se seguem. As amostras de sangue foram coletadas antes (T0) e após (T1) cada suplementação.

Foram utilizados métodos e equipamentos específicos para cada dosagem em conformidade com a descrição que segue. Hematócrito, leucócitos e linfócitos – Analisador automático ABX Pentra 60, Montpellier, França (HENRY, 1999). Uréia – Método Natelson e Scott (BURTIS; ASHWOOD, 1994). Creatinina – Automação RA-XT Technicon, Bayer, New Jersey, USA (BURTIS; ASHWOOD, 1994). Glicemia de jejum (Método Hexoquinase – RA-XT) (TRINDER, 1969). Lactato – Método Enzimático Colorimétrico (TIETZ, 1991). Insulina – Ensaio de Quimioluminescência (HENRY, 1999). Peptídio-C – Modular Analytics E170[®], Elecsys[®] e Cobas e[®] / Método de Quimioluminescência (HENRY, 1999). Pré-albumina – Método Nefelometria (HENRY, 1999).

Interleucinas IL-1, IL-6, IL-10 e TNF α – Método Elisa Assay (Ensaio Imunoenzimático Quantitativo tipo sanduiche: anticorpo-antígeno-anticorpo conjugados e os kits (BD BIOSCIENCES[®] - BD OptEIA[™], Califórnia, Estados Unidos – Human IL-1 ELISA Set II, Human IL-6 ELISA Set, Human IL-10 ELISA Set, Human IFN- α ELISA Set). Glutationa total (Método Qualitativo Colorimétrico - Antioxidant Test Kits - BIOXYTECH[®] GSH 420 Assay, Oregon, Estados Unidos) (ANEXO E) e TBARS (CAYMANN'S[®] Assay Kit-Substâncias Reativas do Ácido Tiobarbitúrico, Michigan, Estados Unidos) (ANEXO F).

Glutamina e glutamato – Glutamine/Glutamate Determination Kit (SIGMA[®], Missouri, Estados Unidos) (ANEXO G).

Os valores de referência normais das concentrações e dosagens realizadas são listados abaixo:

- Glicose – 70 a 99 mg/dL
- Hematócrito – 36 a 54%
- IL-10 (Interleucina-10) – 7,8 a 500 pg/ml
- IL-1 β (Interleucina-1) – 3,9 a 250 pg/ml
- IL-6 (Interleucina-6) – 4,7 a 300 pg/ml
- TNF α – 4,7 a 300 pg/ml
- Insulina – 1,90 a 23,00 mIU/ml
- Lactato – 0,5 a 2,22 mmol/L
- Leucócitos – 4.000 A 10.000 x 10⁶ μ L
- Monócitos – 2 a 10%

Uréia – 15 a 40mg/dL

Creatinina – 0,40 a 1,30mg/dL

Peptídeo C – 0,9 a 4,0 ng/ml

Pré-albumina – 0,20 a 0,40g/L

Os kits utilizados para avaliação da glutamina, glutamato, glutationa, TBARS, TNF α , IL-1, IL-6 E -10 são destinados exclusivamente para pesquisas e os procedimentos foram realizados conforme as instruções dos fabricantes.

3.8 Procedimentos Laboratoriais

3.8.1 Dosagem de Glicose

A amostra de sangue foi coletada após período de jejum e para realizá-la foi utilizado um anticoagulante contendo um inibidor de glicólise, o Glistab-Labtest[®]. O uso deste inibidor permite a colheita de uma única amostra para as dosagens de creatinina, uréia e glicose diminuindo a exposição do paciente a este processo invasivo. Foi coletado sangue venoso, não ultrapassando 10ml por coleta.

O Método Hexoquinase foi utilizado para realizar a dosagem de glicose do jejum e tem a finalidade de utilizar um sistema enzimático para a determinação da glicose no sangue por método cinético ou de ponto final. Este exame é realizado no aparelho Auto Analisador RA-XT. A glicose da amostra de sangue sofre a ação da glicose oxidase que catalisa a oxidação da glicose de acordo com a reação abaixo:



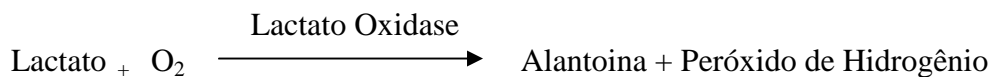
O peróxido de hidrogênio formado reage com 4-aminoantipirina e fenol, sob a ação catalisadora da peroxidase, por meio de uma reação oxidativa de acoplamento formando uma antipirilquinonimina vermelha cuja intensidade de cor é proporcional a concentração de glicose da amostra.



O sistema permite que a determinação seja realizada em método cinético de tempo fixo obtendo-se resultados em apenas 90 segundos de reação e também em método de ponto final, que proporciona mais agilidade para determinados analisadores bioquímicos. Este método pode ser usado em técnica manual e é facilmente aplicável em analisadores semi-automáticos e automáticos capazes de medir com exatidão a absorvância entre 490 e 520nm. Reagentes utilizados em conformidade com o protocolo disponibilizado pelo fabricante Labtest®.

3.8.2 Concentração de Lactato

As concentrações de lactato foram determinadas no sangue pelo LOD-PAP – Método Enzimático Colorimétrico para Determinação do Lactato (TIETZ, 1991). O lactato da amostra sofre ação enzimática como a sequencia abaixo.



O peróxido de hidrogênio produzido reage com um reagente fenólico e de 4-aminoantipirina e sofre a ação da peroxidase produzindo um composto corado denominado quinonimina com máxima absorção em 540nm.

Os reagentes são disponibilizados pelo fabricante Katal® dotado de um conjunto de 100 determinações de lactato contendo a solução tampão para o ensaio, as enzimas e o padrão a serem utilizados.

Em três tubos de ensaio (branco, amostra e padrão) foram adicionados a solução tampão, as enzimas, a amostra de plasma humano (apenas no tubo amostra) e o padrão. Em seguida os tubos foram homogeneizados e colocados em banho-maria a 37°C por 5 minutos. As absorvâncias do teste e do padrão foram determinadas em 540nm, acertando o zero com o “branco” e a cor formada manteve-se estável por 30 minutos. Em seguida foram realizados os cálculos considerando:

$$\text{Lactato (nmol/L)} = (\text{Absorbância do Teste} : \text{Absorbância do Padrão}) \times 4,44$$

Fator de Calibração = 4,44 : Absorbância do Padrão

Lactato (nmol/L) = Absorbância do Teste x Fator

Lactato (nmol/L) = 9,01 x nmol/L

O valor de referência para o plasma é 0,5 a 2,22 nmol/L (4,5 a 20mg/dL).

3.8.3 Dosagem de Peptídeo-C

Para a dosagem de peptídeo-C foi coletado sangue venoso e se utilizou o ensaio de Quimioluminescência. Trata-se de um teste de Peptídeo ligante Cobas-Roche® com os reagentes Elecsys® para determinação quantitativa *in vitro* do peptídeo-C humano no soro. O teste Elecsys C-Peptide® utiliza dois anticorpos monoclonais especificamente dirigidos contra o peptídeo-C humano. Estes anticorpos demonstram reação cruzada com a cadeia C da pró-insulina humana e, presumivelmente, com pró-insulinas processadas parcialmente (produtos da degradação). Os cálculos dos resultados foram feitos pelo analisador Modular Analytics E170®, Elecsys® e Cobas e®, levando em consideração a diluição ao calcular a concentração da amostra. O analisador calculou automaticamente a concentração do analito de cada amostra, em nmol/L, ng/mL ou pmol/L. Para obtenção do resultado final utilizaram-se os fatores de conversão.

3.8.4 Dosagem de Insulina

Para a dosagem de insulina foi coletado sangue venoso e se utilizou o ensaio de Quimioluminescência - Access Cobas-Roche® para sua determinação. Trata-se de um imunoensaio concebido para ser usado em Elecsys Insulin® e Cobas®, com capacidade de determinação quantitativa *in vitro* da insulina humana, no soro ou plasma humanos.

A determinação de insulina foi feita pela técnica sanduiche, com duração total de 18 minutos. Esta técnica utiliza duas incubações: na primeira incubação a insulina de uma amostra de 20µL, um anticorpo monoclonal biotilado específico anti-insulina e um anticorpo monoclonal específico anti-insulina, marcado com um complexo de rutênio, reagem entre si e formam um complexo sanduiche.

Na segunda incubação, após a incorporação das micropartículas revestidas de estreptavidina, o complexo formado liga-se à fase sólida pela interação da biotina e da estreptavidina. Em seguida, a mistura da reação é aspirada para a célula da leitora, onde as micropartículas são fixadas magneticamente à superfície do eletrodo. Elementos não ligados foram removidos com ProCell. A aplicação de uma corrente elétrica do eletrodo induz uma emissão quimioluminescente que é medida por um fotomultiplicador. Os resultados foram determinados com base numa curva de calibração gerada especificamente pelo analisador, através de uma calibração de 2 pontos e numa curva principal incluída no código de barras do reagente. O analisador calculou automaticamente a concentração do analito de cada amostra em $\mu\text{U/ml}$.

Os reagentes são disponibilizados pelo fabricante Cobas-Roche® e estão incluídos na unidade pronta a ser utilizada. Esta unidade não pode ser separada, porque todas as informações necessárias para o correto funcionamento desta técnica são introduzidas no analisador por meio dos respectivos códigos de barras do reagente.

3.8.5 Dosagem de Pré-Albumina

Para a dosagem de pré-albumina foi coletado sangue venoso do qual se utilizaram amostras adequadas de soro humano ou plasma heparinizado, que devem estar frescas. Embora as amostras de soro ou plasma possam ser conservadas no congelamento a -20°C por um período de até 3 meses, as dosagens foram realizadas logo após as coletas utilizando-se o Método Nefelometria. Trata-se de reagentes para diagnóstico *in vitro* para a determinação quantitativa da pré-albumina que contem antisoros de pré-albumina.

3.8.6 Quantificação das Interleucinas

As interleucinas IL-1, IL-6, IL-10 e TNF α foram quantificadas no plasma pelo Método Elisa Assay, técnica de ensaio imunoenzimático quantitativo tipo sandwich: anticorpo-antígeno-anticorpo conjugados (BUYALOS; WATSON; MARTINEZ-MAZA, 1998). Os kits utilizados (Human IL-1 ELISA Set II, Human IL-6 ELISA Set, Human IL-10 ELISA Set, Human TNF α ELISA Set) são exclusivamente para pesquisas e os procedimentos foram realizados conforme as instruções do fabricante BD BIOSCIENCES® - BD OptEIA™.

Para a determinação quantitativa das interleucinas foi usado um kit reagente (Reagent Set B) (BD BIOSCIENCES[®]) que contem o diluente para o ensaio, os substratos A e B, a solução de parada e a solução concentrada para lavagem.

3.8.7 Dosagem da Glutaciona

A glutaciona total foi quantificada no plasma obtido do sangue venoso. Utilizou-se o ensaio da BIOXYTECH[®] Antioxidant Test Kits denominado Deteminação Colorimétrica Quantitativa da Glutaciona Total para a quantificação da glutaciona. Trata-se do ensaio BIOXYTECH[®] GSH[™] 420–Assay (ANEXO E), usado exclusivamente na pesquisa clínica, concebido para a determinação quantitativa colorimétrica da glutaciona total em amostras biológicas. Este método se baseia na formação de um cromofórico tiol (MEISTER; ANDERSON, 1983).

A Glutaciona Total dosada (BIOXYTECH[®] GSH 420–Assay) que se encontra na forma reduzida (GSH) inclui toda a glutaciona livre e as outras formas ligadas, os chamados dissulfidos, tais como glutaciona-císteina. Como a quantidade de glutaciona ligada é considerável, principalmente na glutaciona presente nas células, é definida como “glutaciona celular total” (SIES, 1997).

Os reagentes são disponibilizados pelo fabricante e devem ser estocados em temperatura entre 2 e 8°C no escuro. Após ser aberto, o reagente de precipitação pode degradar com o tempo e o odor de clorofórmio é o sinal desta degradação.

3.8.8 Dosagem da Concentração de Substâncias Reagentes ao TBARS

A avaliação da dosagem da concentração de substâncias reagentes do TBARS foi realizada no plasma obtido do sangue venoso através da medida do MDA, substância que naturalmente é produto da peroxidação lipídica. O MDA é um dialdeído formado como um produto secundário durante a oxidação de ácidos graxos poliinsaturados por cisão *beta* dos ácidos graxos poliinsaturados peroxidados, principalmente o ácido araquidônico (LIMA; ABDALLA, 2001). É volátil, possui baixo peso molecular (C₃H₄O₂, Peso Molecular = 72,07), tem uma cadeia curta 1,3-dicarbonil e é um ácido moderadamente fraco (pKa = 4,46). Em

condições apropriadas de incubação (meio ácido e aquecimento), reage eficientemente com uma variedade de agentes nucleofílicos para produzir cromógenos com alta absorvidade molar no espectro visível (BENZIE, 1996).

Utilizou-se o ensaio da CAYMANN'S[®] Assay Kit (ANEXO G) denominado medida das Substâncias Reativas do Ácido Tiobarbitúrico, utilizado na avaliação do nível de peroxidação lipídica. Esta técnica permite quantificar o MDA formado na peroxidação lipídica. O teste com o ácido tiobarbitúrico foi feito no plasma e o resultado obtido foi expresso em μM MDA. O protocolo e as técnicas específicas deste procedimento estão descritas (ANEXO F). O kit deve ser estocado em temperatura de -4°C .

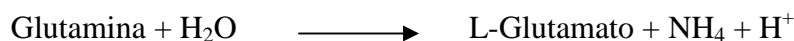
3.8.9 Determinação da Glutamina

A determinação da glutamina foi realizada no plasma obtido do sangue venoso. Utilizou-se o ensaio Glutamine/Glutamate Determination Kit da SIGMA[®] (ANEXO H). Este kit é designado para medida espectrofotométrica da L-glutamina e ou L-glutamato por meio da desaminação da L-glutamina e dehidrogenação do L-glutamato com a conversão do NAD^+ em NADH (LUND, 1986).

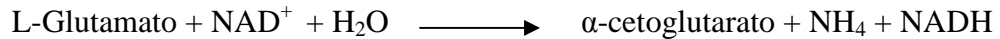
O espectrofotômetro utilizado para leitura foi o BioPhotometer Plus analysis system da EPPENDORF[®]. O protocolo e as técnicas específicas deste procedimento estão descritas (ANEXO G). O kit Glutamine/Glutamate Determination deve ser estocado em temperatura de 2 a 8°C .

A determinação da L-glutamina é uma reação de dois passos: Reação (A) desaminação da L-glutamina em L-glutamato e Reação (B) dehidrogenação do L-glutamato em α -cetoglutarato acompanhado pela redução do NAD^+ em NADH. A conversão de NAD^+ em NADH é medida espectrofotometricamente e é proporcional a quantidade de glutamato que é oxidado, por isso a quantidade de glutamina convertida para glutamato nas amostras.

Reação (A) \rightarrow desaminação da glutamina glutaminase



Reação (B) \rightarrow dehidrogenação do glutamato e redução do NAD^+ + GLDH



Para determinação da L-glutamina em meio contendo L-glutamina e L-glutamato ou seus sais, o L-glutamato endógeno deve ser medido.

3.9 Análise Estatística

Os dados coletados e compilados foram armazenados em bancos de dados construídos no Microsoft Office Excel versão 2003. Foram analisados 20 parâmetros (hematócrito, leucócitos, linfócitos, monócitos, uréia, creatinina, pré-albumina, lactato, glicose, peptídeo-C (indicador da secreção de insulina), insulina, interleucinas (IL-1, IL-6, IL-10), TNF α (Fator de Necrose Tumoral), TBARS (ácido tiobarbitúrico), glutatona total, glutamina e glutamato.

Todos os parâmetros foram mensurados nos grupos Glutamina T0, Glutamina T1, Caseinato T0 e Caseinato T1.

Inicialmente utilizou-se o teste Kolmogorov-Smirnov para todos os resultados com o objetivo de averiguar se as variáveis quantitativas tinham uma distribuição normal. Para as variáveis que apresentaram distribuição normal (dosagens de Glutamina e percentual do hematócrito) foram calculadas a Média e Desvio Padrão. Para estes foram utilizados o Test *t* emparelhado para comparar os grupos Caseinato T0 *versus* Caseinato T1 e Glutamina T0 *vs* Glutamina T1 e para comparar Caseinato *vs* Glutamina no tempo T0 e Caseinato *vs* Glutamina no tempo T1 (comparação intragrupos e intergrupos).

Para as demais variáveis não paramétricas (glicose, lactato, monócitos, creatinina, peptídeo C, uréia, insulina, pré-albumina, leucócitos, IL-6, IL-10, IL-1 beta, TNF α , TBARS e Glutamato) foram calculadas a mediana e intervalo interquartil. O teste de Wilcoxon foi usado para comparação intragrupos e intergrupos.

Em todas as análises se estabeleceu 0,05 a probabilidade α do erro tipo I (significância estatística), sendo considerado estatisticamente significativo o valor de *p* bicaudal < 5% (95% IC).

O software para análises de dados estatísticos GraphPad[®] versão 5.0 para Windows[®] (GraphPad Software, San Diego, Califórnia, USA, 2007 – www.graphpad.com) foi utilizado para realização de todos os procedimentos estatísticos.

Os resultados foram expressos em Média (Desvio Padrão) e Mediana (Intervalo Interquartil) e apresentados em forma de tabelas, gráficos e figuras. Os gráficos foram elaborados com os recursos existentes no software GraphPad®.

3.10 Financiamento

O presente estudo foi financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) – Ministério da Ciência e Tecnologia – Processo nº 142561/2006.1.

4 RESULTADOS

4.1 Características dos Participantes do Estudo

Durante 14 meses, 186 pacientes internados na UTI da Casa de Saúde e Maternidade São Raimundo foram avaliados e, dentre estes, 36 pacientes foram selecionados porque preencheram os critérios de inclusão. A participação dos pacientes neste estudo foi mediante a autorização de seu médico intensivista e familiares, ou responsáveis, que assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Dos 36 pacientes selecionados, 06 não concluíram o tratamento porque foram a óbito no primeiro dia (n=03), no segundo dia (n=02) e no quarto dia do estudo (n=01). Os 30 pacientes que participaram integralmente do estudo eram indivíduos adultos e idosos de ambos os sexos, 16 homens e 14 mulheres, mediana de idade 74,4 anos (Int. Interquartil 30-92 anos) em estado moderadamente grave de saúde, que apresentavam a Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica.

Todos os 30 pacientes permaneceram no estudo até o final e nenhum paciente se apresentou hemodinamicamente instável durante o estudo. Não houve desistências durante o período do estudo.

Considerando-se os parâmetros estabelecidos na literatura (ACCP/SCCM CONSENSUS CONFERENCE, 1992; LEVY *et al.*, 2003), a maior parte dos pacientes envolvidos no estudo apresentou no diagnóstico de SRIS contagem elevada de leucócitos ($>12.000\text{mm}^3$ - 83,3%), seguidos por frequência cardíaca superior a 90 batimentos/minuto (70%), e hipo ou hipertermia ($<36^\circ\text{C}$ $>38^\circ\text{C}$ - 60%).

A mediana do volume de infusão da nutrição enteral foi 1120ml/dia=1478kcal/dia (6207kJ/dia) (Int. Interquartil 792-1914 kcal/dia). A mediana do APACHE II foi 13,1 (Int. Interquartil 10-19).

Todos os pacientes acompanhados neste estudo estão sumarizados na Tabela 1.

TABELA 1 – Perfil dos Pacientes do Estudo

Dados dos Pacientes	n	%
Pacientes	30	100,0
Idade (Mediana, mínima, máxima)	74,4 (30-92)	
Gênero		
Feminino	14	47,0
Masculino	16	53,0
SRIS	30	100,0
Nutrição Enteral (NE)	30	100,0
Ingestão calórica proveniente da nutrição enteral suplementada com Glutamina ou Caseinato de Cálcio (Mediana, mínima, máxima)	1464kcal/dia=6148kJ/dia (792-1914kcal/dia)	
Critérios Diagnósticos de SRIS		
APACHE II (Mediana, mínima, máxima)	13,1 (10-19)	
Contagem Anormal de Leucócitos	25	83,3
Frequência Cardíaca > 90 bat/min	21	70,0
Hipo ou Hipertermia	18	60,0
Diagnóstico Primário		
Doença de Alzheimer	2	6,7
Neoplasia	3	10,0
Acidente Vascular Cerebral	4	13,4
HAS Severa	1	3,3
Pneumonia	4	13,4
Anemia	1	3,3
Linfoma	1	3,3
Doença de Parkinson	1	3,3
Esclerose Múltipla	1	3,3
Doença Diverticular do Cólon	1	3,3
CA de Pênis	3	10,0
Demência	1	3,3
Insuficiência Respiratória	7	23,4
Diagnóstico Secundário		
Infecção Respiratória	30	100,0

4.2 Efeito da suplementação de L-glutamina sobre a função hematológica

Observou-se que o uso de nutrição enteral suplementada com L-glutamina, na dose nutracêutica de 30g/dia, preconizada no estudo, mostrou-se segura (Tabela 2).

TABELA 2 – Valores da Média±Desvio Padrão ou Mediana (Intervalo Interquartil) dos parâmetros avaliados, referentes aos grupos Caseinato e Glutamina, obtidos nos tempos T0 e T1.

Parâmetros	Caseinato (CAS)		Glutamina (L-GLN)		Significância Valor de <i>p</i>
	T0	T1	T0	T1	
Hematócrito ¹ (36,00 – 54,00%)	30,05±4,37	30,06±2,28	30,31±4,63	28,60±3,40	¹ ns (Intragrupo CAS) ¹ <i>p</i> = 0,0039 (Intragrupo GLN) ¹ ns (Intergrupos CAS vs. GLN)
Leucócitos ² (4.000-10.000 x 10 ⁶ /µL)	13.650 (10.148-18.250)	11.500(8.050-29.100)	12.850 (11.155-15.550)	11.000 (9.200-16.325)	² <i>p</i> = 0,019 (Intragrupo CAS) ² <i>p</i> = 0,046 (Intragrupo GLN) ² ns (Intergrupos CAS vs. GLN)
Linfócitos ³ (20-50%)	9,50 (6,00-19,25)	9,00 (6,00-12,00)	7,50 (4,75-15,00)	15,00(9,75-23,25)	³ <i>p</i> = 0,027 (Intragrupo CAS) ³ <i>p</i> < 0,0001 (Intragrupo GLN) ³ <i>p</i> < 0,0001 (Intergrupos CAS vs. GLN)
Linfócitos ⁴ (800-5000)	1.288 (834-2.209)	1.085 (805-1.363)	954 (785-1.442)	1.916 (1.301-2.517)	⁴ <i>p</i> = 0,032 (Intragrupo CAS) ⁴ <i>p</i> < 0,0001 (Intragrupo GLN) ⁴ <i>p</i> < 0,0001 (Intergrupos CAS vs. GLN)
Monócitos ⁵ (2,00-10,00%)	3,00 (2,00-5,00)	3,00 (2,00-5,00)	3,00 (2,00-4,00)	3,00 (2,00-4,00)	⁵ <i>p</i> = ns (Intragrupo CAS; Intragrupo GLN; Intergrupos CAS vs. GLN)
Uréia ⁶ (15,00-40,00 mg/dL)	47,00 (31,50-82,75)	47,00 (33,00-69,00)	48,00 (30,00-69,75)	50,00 (36,75-75,00)	⁶ <i>p</i> = ns (Intragrupo CAS; Intragrupo GLN) ⁶ <i>p</i> = 0,030 (Intergrupo CAS vs. GLN)
Creatinina ⁷ (0,40-1,30 mg/dL)	0,95 (0,68-1,10)	0,85 (0,60-1,22)	0,90 (0,80-1,20)	0,90 (0,60-1,20)	⁷ <i>p</i> = ns (Intragrupo CAS; Intragrupo GLN; Intergrupos CAS vs. GLN)
Pré-Albumina ⁸ (0,20-0,40 g/L)	0,13(0,07-0,19)	0,12 (0,08-0,18)	0,12 (0,08-0,21)	0,11 (0,08-0,20)	⁸ <i>p</i> = ns (Intragrupo CAS; Intragrupo GLN; Intergrupos CAS vs. GLN)
Glicose ⁹ (70,00-99,00mg/dL)	128,90 (101,80-152,30)	123,40 (106,80-138,50)	134,00 (108,50-148,80)	117,50 (105,50-145,00)	⁹ <i>p</i> = ns (Intragrupo CAS; Intragrupo GLN; Intergrupos CAS vs. GLN)
Lactato ¹⁰ (0,50-2,22 mmol/L)	1,330 (1,250-1,590)	1,345 (1,188-1,171)	1,29 (1,168-1,615)	1,295 (1,168-1,883)	¹⁰ <i>p</i> = ns (Intragrupo CAS; Intragrupo GLN; Intergrupos CAS vs. GLN)
Peptídeo-C ¹¹ (0,90-0,40ng/ml)	3,595 (2,583-6,120)	3,275 (1,958-5,648)	4,240 (2,150 – 6,303)	4,710 (3,195-6,283)	¹¹ <i>p</i> = ns (Intragrupo CAS; Intragrupo GLN; Intergrupos CAS vs. GLN)
Insulina ¹² (1,90 a 23,00 µU/ml)	6,855 (2,603-13,890)	5,235 (2,945-13,810)	6,090 (2,508 – 9,570)	5,640 (2,553-13,530)	¹² <i>p</i> = ns (Intragrupo CAS; Intragrupo GLN; Intergrupos CAS vs. GLN)

Continuação da Tabela 2

TNF α ¹³ (4,7 a 300 pg/ml)	0,677 (0,463-1,191)	0,595 (0,210-1,471)	0,735 (0,293 – 1,218)	0,937 (0,394-1,395)	¹³ <i>p</i> = ns (Intragrupo CAS; Intragrupo GLN; Intergrupos CAS vs. GLN)
IL-1 ¹⁴ (3,9 a 250 pg/ml)	0,741 (0,377-1,146)	0,781 (0,339-1,405)	0,99 (0,417 – 2,254)	0,609 (0,388-1,487)	¹⁴ <i>p</i> = ns (Intragrupo CAS; Intragrupo GLN; Intergrupos CAS vs. GLN)
IL-6 ¹⁵ (4,7 a 300 pg/ml)	47,250 (15,230-102,600)	27,230 (10,170-98,640)	34,360 (20,190 – 90,380)	31,220 (14,610-140,200)	¹⁵ <i>p</i> = ns (Intragrupo CAS; Intragrupo GLN; Intergrupos CAS vs. GLN)
IL-10 ¹⁶ (7,8 a 500 pg/ml)	11,010 (5,455-20,910)	12,520 (7,320-49,250)	14,730 (7,068-39,110)	11,210 (4,472-42,440)	¹⁶ <i>p</i> = ns (Intragrupo CAS; Intragrupo GLN; Intergrupos CAS vs. GLN)
TBARS ¹⁷ (μ Mol MDA/ml)	20,560 (14,210-38,590)	15,080 (13,640-20,560)	17,670 (8,155-34,980)	16,520 (5,415-21,860)	¹⁷ <i>p</i> = 0,020 (Intragrupo CAS) ¹⁷ <i>p</i> = 0,001 (Intragrupo GLN) ¹⁷ <i>p</i> = ns (Intergrupo CAS vs. GLN)
Glutathione ¹⁸ (568 a 1511 μ mol)	486,0 \pm 165,8	451,1 \pm 167,4	464,5 \pm 168,3	445,6 \pm 159,2	¹⁸ <i>p</i> = 0,047 (Intragrupo CAS) ¹⁸ <i>p</i> = ns (Intragrupo GLN; Intergrupo CAS vs. GLN)
Glutamina ¹⁹	1666,0 \pm 672,3	1297,0 \pm 236,5	1399,0 \pm 307,0	1481,0 \pm 542,2	²⁰ <i>p</i> = ns (Intragrupo CAS) ²⁰ <i>p</i> = ns (Intragrupo GLN) ²⁰ <i>p</i> = ns (Intergrupo CAS vs. GLN)
Glutamato ²⁰	765,5 (642,4-992,8)	832,0 (706,5 – 1167,0)	802,1 (536,9 – 1101,0)	865,5 (618,2 – 1113,0)	²¹ <i>p</i> = ns (Intragrupo CAS) ²¹ <i>p</i> = ns (Intragrupo GLN) ²¹ <i>p</i> = ns (Intergrupo CAS vs. GLN)
Razão Glutamato/Glutamina (μ mol) ²¹	0,4798 (0,4107 – 0,7691)	0,6930 (0,5630 – 0,7850)	0,6038 (0,3655 – 0,7822)	0,6955 (0,3690 – 0,8453)	²² <i>p</i> = ns (Intragrupo CAS) ²² <i>p</i> = ns (Intragrupo GLN) ²² <i>p</i> = ns (Intergrupo CAS vs. GLN)

Nota1: Os valores de referência das interleucinas (IL-1, IL-6, IL-10 e TNF α) referem-se aos níveis de valores limite de detecção dos kits.

Nota2: ns – não estatisticamente significante; CAS – grupo Caseinato; GLN – grupo Glutamina, *p* – significância.

4.2.1 Percentual de hematócrito em pacientes com SRIS suplementados com L-glutamina pela via enteral

Houve uma diminuição estatisticamente significativa no percentual de hematócrito nos tempos T0 vs T1 do grupo Glutamina (comparação intragrupo) (Tabela 3 e Figura 2).

Quando se compararam os grupos Caseinato vs Glutamina nos tempos T0 e T1 (comparação intergrupos) não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes (Tabela 3 e Figura 2).

TABELA 3 – Valores da média e desvio padrão do hematócrito (%) mensurado nos tempos T0 e T1 em 28 indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.

Tempos	Caseinato		Glutamina		Significância (intergrupos)
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	
T0	30,050	4,370	30,310	4,630	0,824
T1	30,060	2,280	28,600	3,400	0,051
Significância (intragrupos)	0,977		0,003*		

Nota: Dados analisados pelo teste *t* para variáveis emparelhadas.

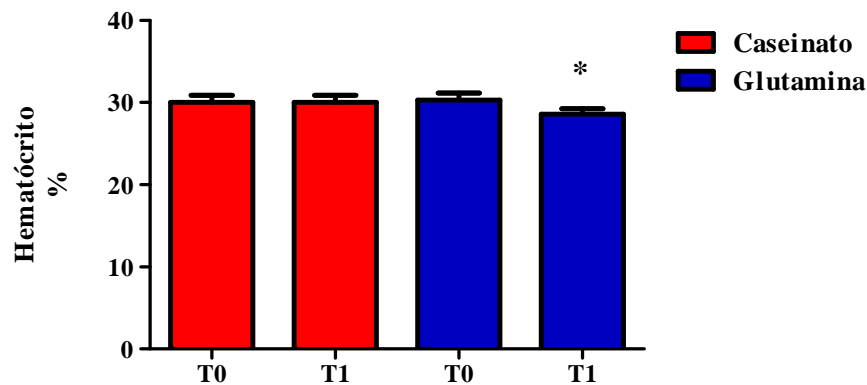


FIGURA 2 – Valores do hematócrito mensurados antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina. Dados expressos como média e desvio padrão, análise dos dados pelo teste *t* para variáveis emparelhadas nas comparações intragrupos e intergrupos. * $p = 0,003$ (T1 < T0 no grupo Glutamina).

4.2.2 Contagem do número de leucócitos em pacientes com SRIS suplementados com L-glutamina pela via enteral

Houve uma diminuição estatisticamente significativa no número de leucócitos tanto no grupo Caseinato como no grupo Glutamina (comparação intragrupos).

Ainda que se tenha observado alterações estatisticamente significantes, os dois suplementos utilizados no estudo podem ter contribuído para esta redução. Quando se compararam os grupos Caseinato vs Glutamina nos tempos T0 e T1 (comparação intergrupos) não houveram diferenças estatisticamente significantes (Tabela 4 e Figura 3).

TABELA 4 – Valores da mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) do número de leucócitos ($1/\text{mm}^3$) mensurados nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.

Tempos	Caseinato		Glutamina		Significância (intergrupos)
	Mediana	Int. Interquartil	Mediana	Int. Interquartil	
T0	13.650	10.148 – 18.250	12.850	11.155 – 15.550	0,821
T1	11.500	8.050 – 29.100	11.000	9.200 – 16.325	0,616
Significância (intragrupos)	0,019*		0,046**		

Nota: Dados analisados pelo teste de Wilcoxon.

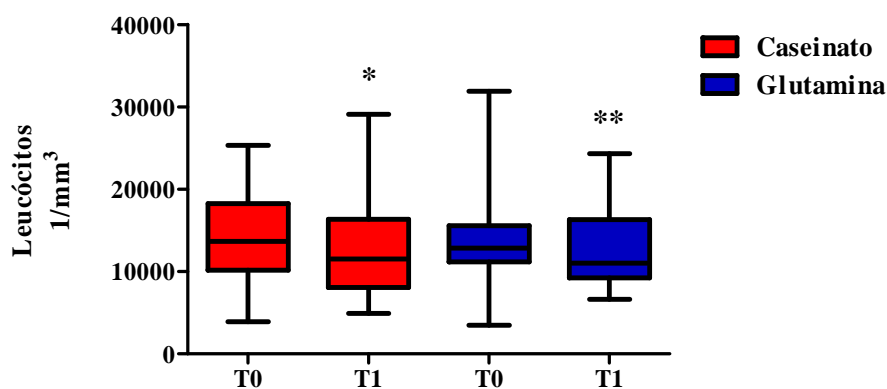


FIGURA 3 – Contagem de leucócitos mensurados antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina. Dados expressos como mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75), dados analisados pelo teste de Wilcoxon para comparações intragrupos e intergrupos. * $p = 0,019$ ($T1 < T0$ no grupo Caseinato) e ** $p = 0,046$ ($T1 < T0$ no grupo Glutamina).

4.2.3 Percentual de linfócitos em pacientes com SRIS suplementados com L-glutamina pela via enteral

Houve um aumento estatisticamente significativo no percentual dos linfócitos nos tempos T0 vs T1 do grupo Glutamina (comparação intragrupos) (Tabela 5 e Figura 4).

Quando se compararam os grupos Caseinato vs Glutamina nos tempos T0 e T1 (comparação intergrupos) diferenças estatisticamente significantes não foram encontradas (Tabela 5 e Figura 4).

Ainda concernente aos linfócitos observou-se uma diminuição estatisticamente significativa quando se comparou T0 vs T1 do grupo Caseinato (Tabela 5 e Figura 4).

TABELA 5 – Valores da mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) do percentual de linfócitos (%), em valores relativos, mensurados nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.

Tempos	Caseinato		Glutamina		Significância (intergrupos)
	Mediana	Int. Interquartil	Mediana	Int. Interquartil	
T0	9,50	6,00 – 19,25	7,50	4,75 – 15,00	0,104
T1	9,00	6,00 – 12,00	15,00	9,75 – 23,25	<0,0001 ⁺⁺⁺
Significância (intragrupos)	0,0271*		<0,0001***		

Nota: Dados analisados pelo teste de Wilcoxon.

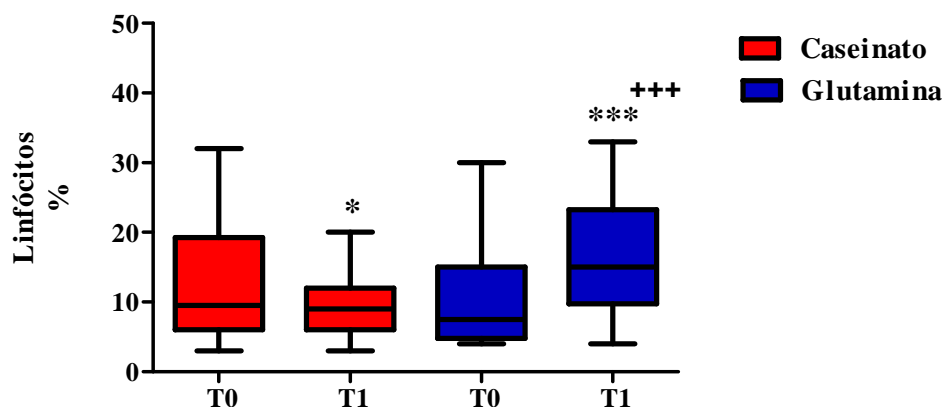


FIGURA 4 – Percentual de linfócitos, mensurados antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina. Dados expressos como mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75), dados analisados pelo teste de Wilcoxon para comparações intragrupos e intergrupos. * $p = 0,0271$ (T1 < T0 no grupo Caseinato); *** $p < 0,0001$ (T1 > T0 no grupo Glutamina); +++ $p < 0,0001$ (T1 Caseinato grupo < T1 no grupo Glutamina).

4.2.4 Contagem total de linfócitos em pacientes com SRIS suplementados com L-glutamina pela via enteral

Houve um aumento estatisticamente significativo no número de linfócitos nos tempos T0 vs T1 do grupo Glutamina (comparação intragrupos) (Tabela 6 e Figura 5).

Quando se compararam os dois grupos em cada tempo (T0 e T1) (comparação intergrupos), também houve diferença estatisticamente significativa entre T1 do grupo Caseinato e T1 do grupo Glutamina (Tabela 6 e Figura 5).

Ainda concernente aos linfócitos observou-se uma redução estatisticamente significativa quando se comparou T0 vs T1 do grupo Caseinato (Tabela 6 e Figura 5).

TABELA 6 – Valores da mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) da contagem dos linfócitos ($1/\text{mm}^3$), em valores absolutos, nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.

Tempos	Caseinato		Glutamina		Significância (intergrupos)
	Mediana	Int. Interquartil	Mediana	Int. Interquartil	
T0	1.288	834 – 2.209	954	785 – 1.442	0,1042
T1	1.085	805 – 1.363	1.916	1.301 – 2.517	<0,0001 ⁺⁺⁺
Significância (intragrupos)	0,0324*		<0,0001***		

Nota: Dados analisados pelo teste de Wilcoxon.

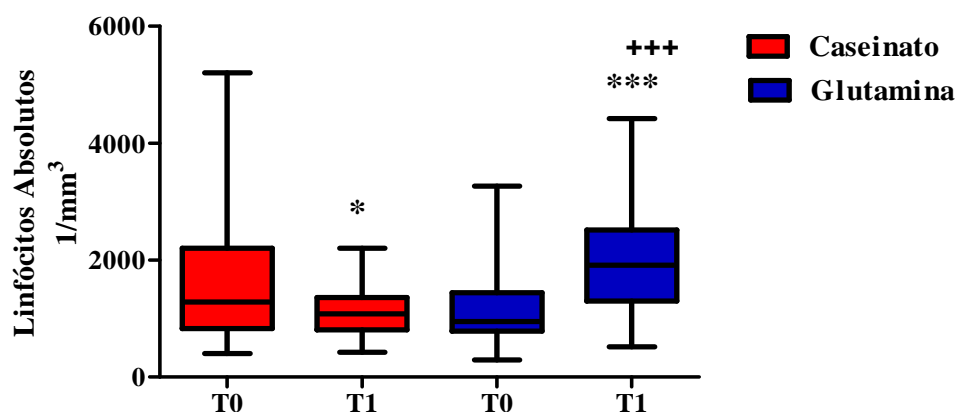


FIGURA 5 – Contagem total de linfócitos, mensurados antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina. Dados expressos como mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75), dados analisados pelo teste de Wilcoxon para comparações intragrupos e intergrupos. * $p = 0,0324$ (T1 < T0 no grupo Caseinato); *** $p < 0,0001$ (T1 > T0 no grupo Glutamina); +++ $p < 0,0001$ (T1 grupo Caseinato < T1 no grupo Glutamina).

4.2.5 Percentual de monócitos em pacientes com SRIS suplementados com L-glutamina pela via enteral

O percentual de monócitos não apresentou alteração estatisticamente significativa na comparação dos tempos T0 vs T1 do grupo Caseinato e T0 vs T1 do grupo Glutamina (comparação intragrupos). Também não houve diferença estatisticamente significativa na comparação dos grupos Caseinato vs Glutamina nos tempos T0 e T1 (comparação intergrupos) (Tabela 7 e Figura 6).

TABELA 7 – Valores da mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) de monócitos em números relativos (%) mensurados nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.

Tempos	Caseinato		Glutamina		Significância (intergrupos)
	Mediana	Int. Interquartil	Mediana	Int. Interquartil	
T0	3,00	2,00 – 5,00	3,00	2,00 – 4,00	0,994
T1	3,00	2,00 – 5,00	3,00	2,00 – 4,00	0,767
Significância (intragrupos)	0,816		0,721		

Nota: Dados analisados pelo teste de Wilcoxon.

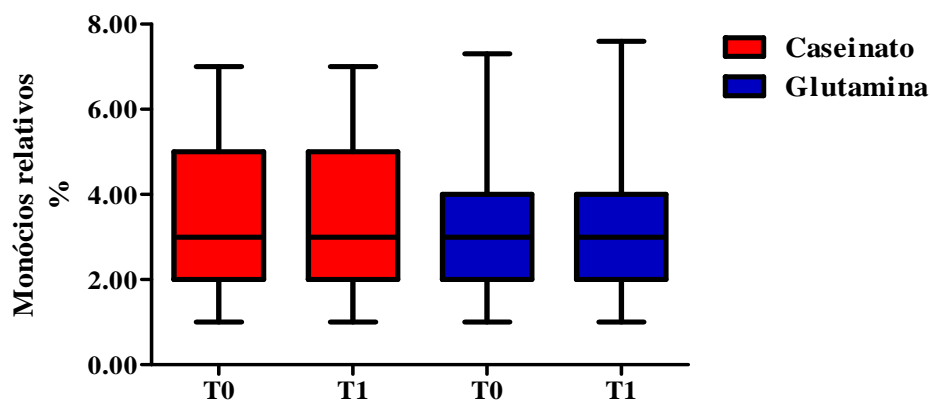


FIGURA 6 – Percentual de monócitos, mensurados antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina. Dados expressos como mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75), dados analisados pelo teste de Wilcoxon para comparações intragrupos e intergrupos: não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes.

4.2.6 Dosagem de pré-albumina em pacientes com SRIS suplementados com L-glutamina pela via enteral

A concentração de pré-albumina não apresentou alteração estatisticamente significativa na comparação dos tempos T0 vs T1 do grupo Caseinato e T0 vs T1 do grupo Glutamina (comparação intragrupos). Quando se compararam os grupos Caseinato vs Glutamina nos tempos T0 e T1 (comparação intergrupos) também não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes.

Observou-se que a mediana dos valores de pré-albumina se encontrava abaixo dos valores de referência esperados para a faixa de normalidade do método utilizado para determinar a concentração de pré-albumina (Tabela 8 e Figura 7).

TABELA 8 – Valores da mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) da concentração sanguínea de pré-albumina (g/L) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.

Tempos	Caseinato		Glutamina		Significância (intergrupos)
	Mediana	Int. Interquartil	Mediana	Int. Interquartil	
T0	0,13	0,070 – 0,195	0,125	0,085 – 0,215	0,988
T1	0,12	0,075 – 0,175	0,110	0,080 – 0,205	0,385
Significância (intragrupos)	0,304		0,296		

Nota: Dados analisados pelo teste de Wilcoxon.

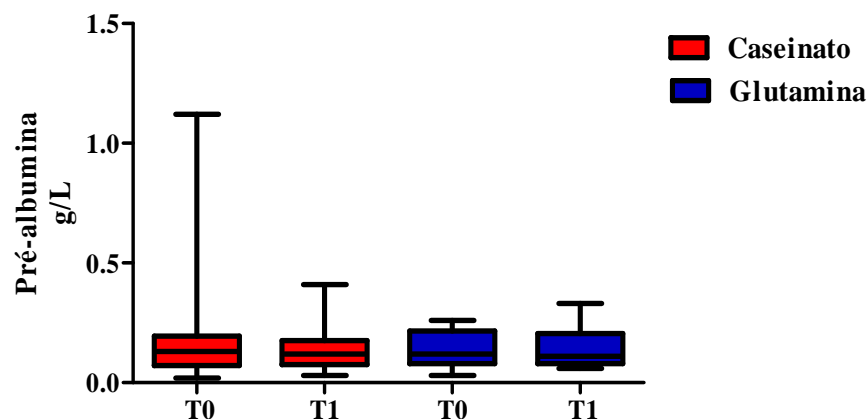


FIGURA 7 – Concentração sanguínea de pré-albumina mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina. Dados expressos como mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75), dados analisados pelo teste de Wilcoxon para comparações intragrupos e intergrupos: não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes.

4.3 Efeito da suplementação de L-glutamina sobre a função renal

4.3.1 Dosagem de uréia em pacientes com SRIS suplementados com L-glutamina pela via enteral

A dosagem de uréia apresentou diferença estatisticamente significativa na comparação dos grupos Caseinato vs Glutamina no T1 (comparação intergrupos). Quando se compararam as medidas nos tempos T0 vs T1 do grupo Caseinato e T0 vs T1 do grupo Glutamina (comparação intragrupos) diferenças estatisticamente significantes não foram encontradas (Tabela 9 e Figura 8).

TABELA 9 – Valores da mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) da concentração sanguínea da uréia (mg/dL) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.

Tempos	Caseinato		Glutamina		Significância (intergrupos)
	Mediana	Int. Interquartil	Mediana	Int. Interquartil	
T0	47,000	31,500 – 82,750	48,000	30,00 – 69,750	0,502
T1	47,000	34,000 – 69,000	50,000	36,75 – 75,000	0,030*
Significância (intragrupos)	0,116		0,113		

Nota: Dados analisados pelo teste de Wilcoxon.

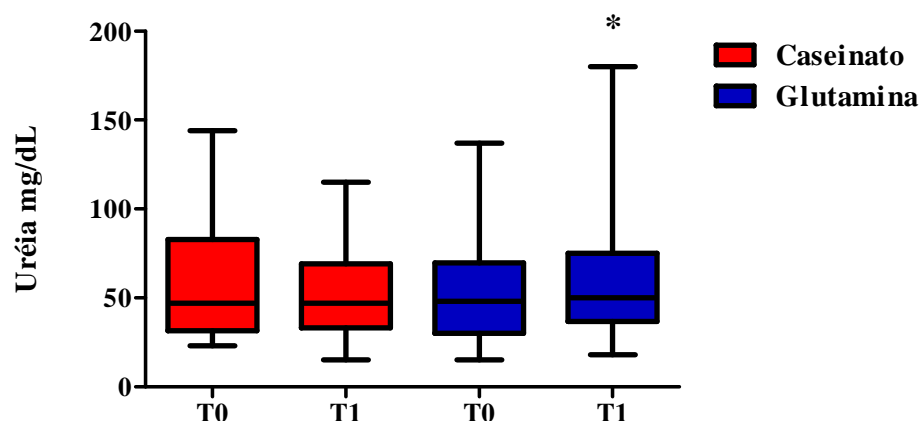


FIGURA 8 – Concentração sanguínea da uréia mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina. Dados expressos como mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75), dados analisados pelo teste de Wilcoxon para comparações intragrupos e intergrupos: * $p = 0,030$ (T1 grupo Caseinato < T1 grupo Glutamina).

4.3.2 Dosagem de creatinina em pacientes com SRIS suplementados com L-glutamina pela via enteral

Não houve alteração estatisticamente significativa nas concentrações de creatinina que se encontravam na faixa de normalidade de referência do método utilizado para determinar a concentração de creatinina na comparação dos tempos T0 vs T1 do grupo Caseinato e T0 vs T1 do grupo Glutamina (comparação intragrupos). Quando se compararam os grupos Caseinato vs Glutamina nos tempos T0 e T1 (comparação intergrupos) também não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes (Tabela 10 e Figura 9).

TABELA 10 – Valores da mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) da concentração sanguínea da creatinina (mg/dL) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.

Tempos	Caseinato		Glutamina		Significância (intergrupos)
	Mediana	Int. Interquartil	Mediana	Int. Interquartil	
T0	0,950	0,675 – 1,100	0,900	0,800 – 1,200	0,829
T1	0,850	0,600 – 1,225	0,900	0,600 – 1,200	0,861
Significância (intragrupos)	0,464		0,756		

Nota: Dados analisados pelo teste de Wilcoxon.

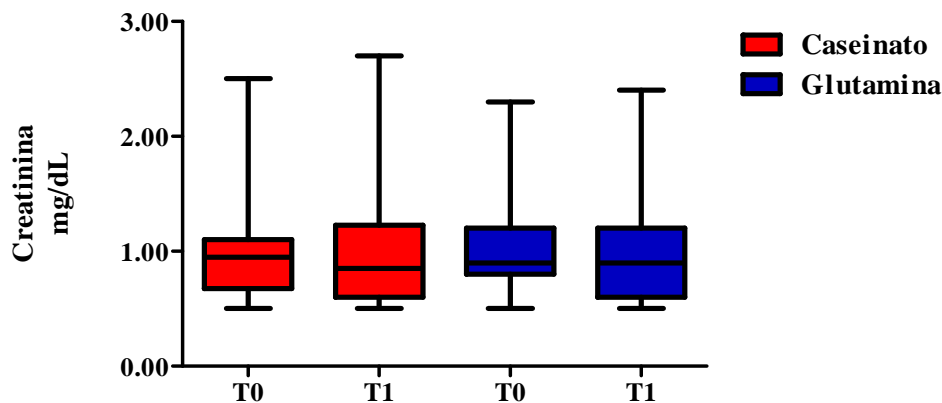


FIGURA 9 – Concentração sanguínea da creatinina mensurada antes (T0) e após (T1) do tratamento nos indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina. Dados expressos como mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75), dados analisados pelo teste de Wilcoxon para comparações intragrupos e intergrupos: não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes.

4.4 Efeito da suplementação de L-glutamina sobre o metabolismo glicolítico

4.4.1 Dosagem de glicose em pacientes com SRIS suplementados com L-glutamina pela via enteral

Não houve alteração estatisticamente significativa na concentração de glicose na comparação dos grupos Caseinato e Glutamina nos tempos T0 e T1 (comparação intragrupos). Na comparação dos grupos Caseinato vs Glutamina nos tempos T0 e T1 (comparação intergrupos) diferenças estatisticamente significantes também não foram encontradas (Tabela 11 e Figura 10).

Observou-se que, para ambos os grupos as concentrações de glicose se encontravam acima da faixa de normalidade de referência do método utilizado para determinar a concentração de glicose.

TABELA 11 – Valores da mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) da concentração sanguínea da glicose (mg/dL) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.

Tempos	Caseinato		Glutamina		Significância (intergrupos)
	Mediana	Int. Interquartil	Mediana	Int. Interquartil	
T0	128,90	101,80 – 152,30	134,00	108,50 – 148,80	0,641
T1	123,20	106,80 – 138,50	117,50	105,50 – 145,00	0,958
Significância (intragrupos)	0,557		0,1778		

Nota: Dados analisados pelo teste de Wilcoxon.

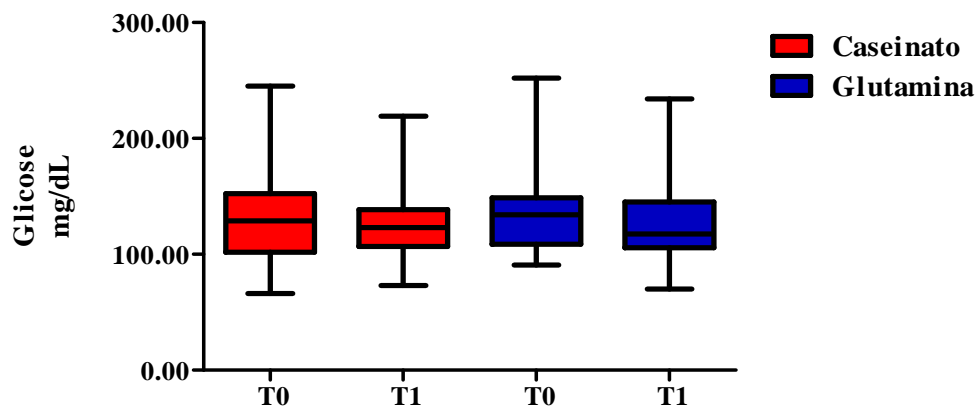


FIGURA 10 – Concentração sanguínea da glicose mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina. Dados expressos como mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75), dados analisados pelo teste de Wilcoxon para comparações intragrupos e intergrupos: não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes.

4.4.2 Dosagem de lactato em pacientes com SRIS suplementados com L-glutamina pela via enteral

A concentração de lactato não apresentou diferença estatisticamente significativa na comparação dos grupos Caseinato vs Glutamina nos tempos T0 e T1 (comparação intragrupos). Quando se compararam os grupos Caseinato vs Glutamina nos tempos T0 e T1 (comparação intergrupos) também não houveram diferenças estatisticamente significantes (Tabela 12 e Figura 11).

TABELA 12 – Valores da mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) da concentração sanguínea de lactato (mmol/L) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.

Tempos	Caseinato		Glutamina		Significância (intergrupos)
	Mediana	Int. Interquartil	Mediana	Int. Interquartil	
T0	1,330	1,250 – 1,590	1,285	1,168 – 1,615	0,503
T1	1,345	1,188 – 1,710	1,295	1,168 – 1,883	0,658
Significância (intragrupos)	0,599		0,416		

Nota: Dados analisados pelo teste de Wilcoxon.

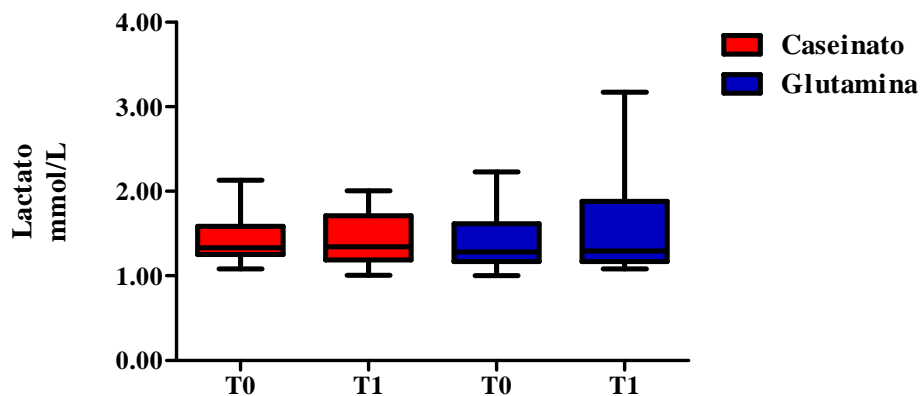


FIGURA 11 – Concentração sanguínea de lactato mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina. Dados expressos como mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75), dados analisados pelo teste de Wilcoxon para comparações intragrupos e intergrupos: não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes.

4.4.3 Dosagem de peptídio C em pacientes com SRIS suplementados com L-glutamina pela via enteral

Não se encontrou diferença estatisticamente significativa na concentração sanguínea de peptídio C avaliada nas medidas dos tempos T0 vs T1 do grupo Caseinato e nos tempos T0 vs T1 do grupo Glutamina (comparação intragrupos).

Quando se compararam os grupos Caseinato vs Glutamina nos tempos T0 e T1 (comparação intergrupos) diferenças estatisticamente significantes também não foram encontradas (Tabela 13 e Figura 12).

TABELA 13 – Valores da mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) da concentração sanguínea de peptídio C (ng/mL) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.

Tempos	Caseinato		Glutamina		Significância (intergrupos)
	Mediana	Int. Interquartil	Mediana	Int. Interquartil	
T0	3,595	2,583 – 6,120	4,240	2,150 – 6,303	0,742
T1	3,275	1,958 – 5,648	4,710	3,195 – 6,283	0,225
Significância (intragrupos)	0,552		0,789		

Nota: Dados analisados pelo teste de Wilcoxon.

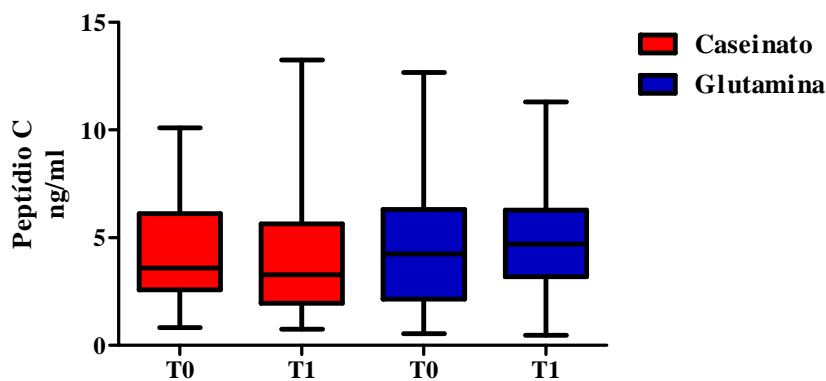


FIGURA 12 – Concentração sanguínea de Peptídio C mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina. Dados expressos como mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75), dados analisados pelo teste de Wilcoxon para comparações intragrupos e intergrupos: não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes.

4.4.4 Dosagem de insulina em pacientes com SRIS suplementados com L-glutamina pela via enteral

Não houve alteração estatisticamente significativa nas concentrações de insulina que se encontravam na faixa de normalidade de referência do método utilizado para sua determinação tanto no grupo Caseinato quanto no grupo Glutamina (Tabela 14 e Figura 13).

Quando se compararam os grupos Caseinato vs Glutamina nos tempos T0 e T1 (comparação intergrupos) também não foram observadas diferenças estatisticamente significantes.

TABELA 14 – Valores da mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) da concentração sanguínea da insulina ($\mu\text{U}/\text{mL}$) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.

Tempos	Caseinato		Glutamina		Significância (intergrupos)
	Mediana	Int. Interquartil	Mediana	Int. Interquartil	
T0	6,855	2,603 – 13,890	6,090	2,508 – 9,570	0,399
T1	5,235	2,945 – 13,810	5,640	2,553 – 13,530	0,471
Significância (intragrupos)	0,484		0,901		

Nota: Dados analisados pelo teste de Wilcoxon.

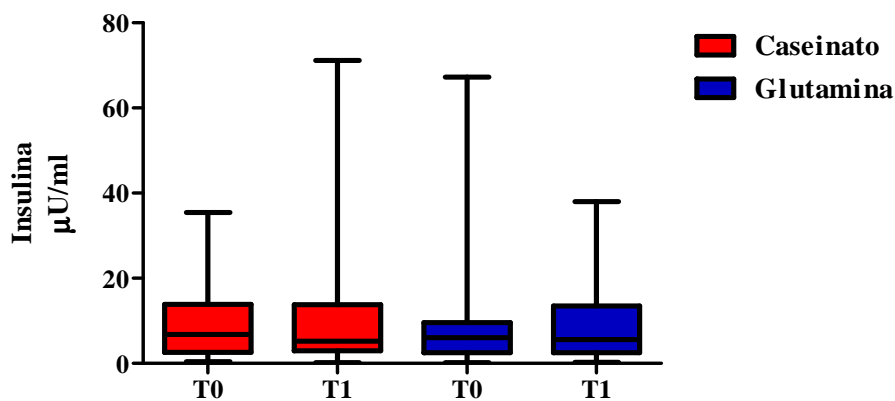


FIGURA 13 – Concentração sanguínea da insulina mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina. Dados expressos como mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75), dados analisados pelo teste de Wilcoxon para comparações intragrupos e intergrupos: não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes.

4.5 Efeito da suplementação de L-glutamina sobre o processo inflamatório

4.5.1 Dosagem das interleucinas (IL-1, IL-6 e IL-10) em pacientes com SRIS suplementados com L-glutamina pela via enteral

Concernente as concentrações de IL-1, IL-6 e IL-10 não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes nas comparações intragrupos e intergrupos em nenhum dos grupos estudados (Tabelas 15, 16, 17 e Figuras 14, 15, 16).

Com relação a IL-1 observou-se que, em ambos os tempos dos grupos estudados (T0 vs T1 do grupo Glutamina e T0 vs T1 do grupo Caseinato) as concentrações de IL-1 estavam abaixo dos valores limítrofes da faixa de referência indicada no método de avaliação (Tabela 15 e Figura 14).

TABELA 15 – Valores da mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) da concentração sanguínea de Interleucina 1 (IL-1) (pg/mL) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.

Tempos	Caseinato		Glutamina		Significância (intergrupos)
	Mediana	Int. Interquartil	Mediana	Int. Interquartil	
T0	0,741	0,377 – 1,146	0,991	0,417 – 2,254	0,274
T1	0,781	0,339 – 1,405	0,609	0,388 – 1,487	0,829
Significância (intragrupos)	0,918		0,428		

Nota: Dados analisados pelo teste de Wilcoxon.

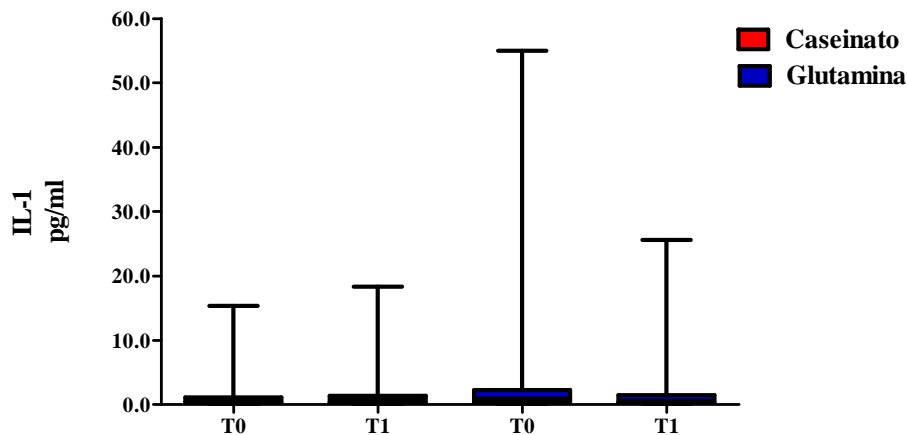


FIGURA 14 – Concentração sanguínea de IL-1 mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina. Dados expressos como mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75), dados analisados pelo teste de Wilcoxon para comparações intragrupos e intergrupos: não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes.

TABELA 16 – Valores da mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) da concentração sanguínea de Interleucina 6 (IL-6) (pg/mL) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.

Tempos	Caseinato		Glutamina		Significância (intergrupos)
	Mediana	Int. Interquartil	Mediana	Int. Interquartil	
T0	47,250	15,230 – 102,600	34,360	20,190 – 90,380	0,370
T1	27,230	10,170 – 98,640	31,220	14,610 – 140,200	0,829
Significância (intragrupos)	0,422		0,821		

Nota: Dados analisados pelo teste de Wilcoxon.

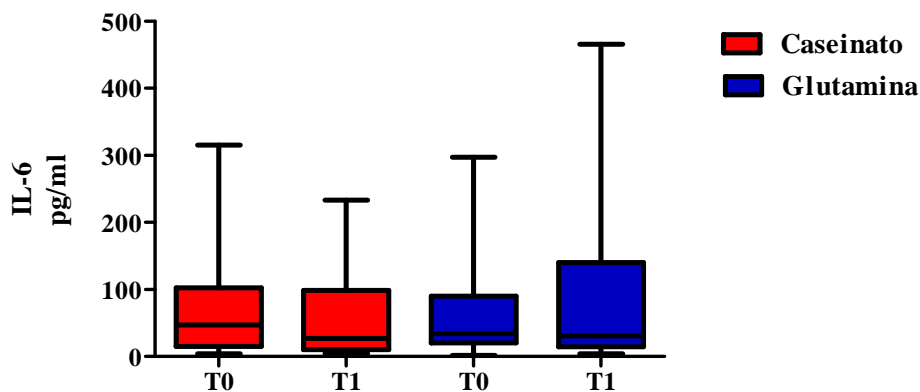


FIGURA 15 – Concentração sanguínea de IL-6 mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina. Dados expressos como mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75), dados analisados pelo teste de Wilcoxon para comparações intragrupos e intergrupos: não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes.

Também não foram encontradas diferenças estatisticamente nas concentrações de IL-10 em nenhum dos grupos estudados (Tabela 17 e Figura 16).

TABELA 17 – Valores da mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) da concentração sanguínea de Interleucina 10 (IL-10) (pg/mL) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.

Tempos	Caseinato		Glutamina		Significância (intergrupos)
	Mediana	Int. Interquartil	Mediana	Int. Interquartil	
T0	11,010	5,455 – 20,910	14,730	7,068 – 39,110	0,294
T1	12,520	7,320 – 49,250	11,210	4,472 – 42,440	0,666
Significância (intragrupos)	0,173		0,680		

Nota: Dados analisados pelo teste de Wilcoxon.

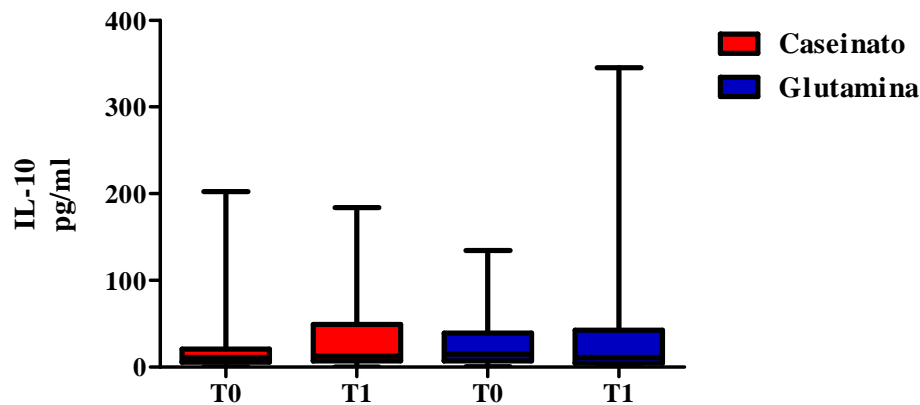


FIGURA 16 – Concentração sanguínea de IL-10 mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina. Dados expressos como mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75), dados analisados pelo teste de Wilcoxon para comparações intragrupos e intergrupos: não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes.

4.5.2 Dosagem de TNF α em pacientes com SRIS suplementados com L-glutamina pela via enteral

Não foram encontradas diferenças estatisticamente nas concentrações de TNF α em nenhum dos grupos estudados (Tabela 18 e Figura 17).

TABELA 18 – Valores da mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) da concentração sanguínea de TNF α (pg/mL) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.

Tempos	Caseinato		Glutamina		Significância (intergrupos)
	Mediana	Int. Interquartil	Mediana	Int. Interquartil	
T0	0,677	0,463 – 1,191	0,735	0,293 – 1,218	0,354
T1	0,595	0,210 – 1,471	0,937	0,394 – 1,395	0,745
Significância (intragrupos)	0,411		0,882		

Nota: Dados analisados pelo teste de Wilcoxon.

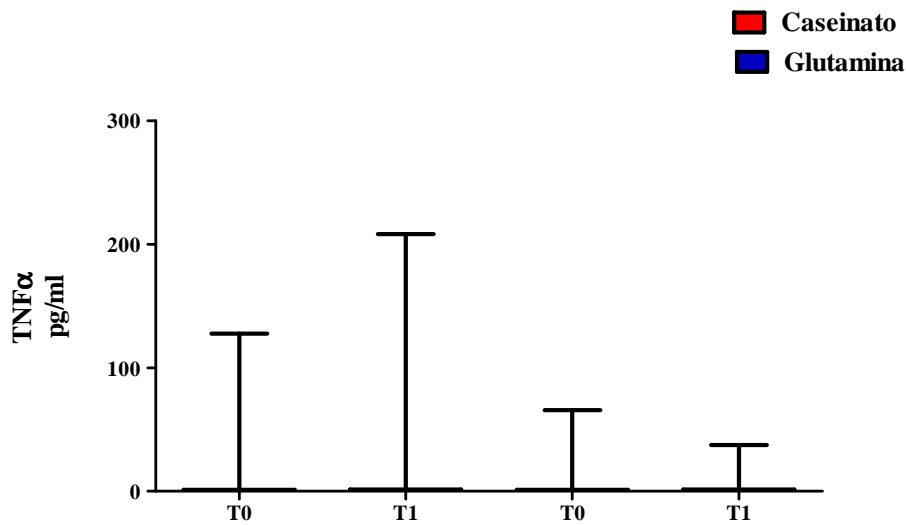


FIGURA 17 – Concentração sanguínea de TNF α mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina. Dados expressos como mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75), dados analisados pelo teste de Wilcoxon para comparações intragrupos e intergrupos: não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes.

4.6 Efeito da Suplementação de L-glutamina sobre o Estresse Oxidativo

4.6.1 Dosagem de glutathiona (GSH) em pacientes com SRIS suplementados com L-glutamina pela via enteral

A concentração sanguínea de glutathiona total avaliada pelo teste *t* para variáveis emparelhadas, nos tempos T0 vs T1 do grupo Caseinato mostrou uma redução estatisticamente significativa da GSH no T1 do grupo Caseinato ($p = 0,047$). Quando se compararam os tempos T0 vs T1 do grupo Glutamina não houveram diferenças estatisticamente significantes. Quando se compararam os grupos Caseinato vs Glutamina nos tempos T0 e T1 (comparação intergrupos) também não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes (Tabela 19 e Figura 18).

TABELA 19 – Valores da média e desvio padrão da concentração sanguínea de glutathione ($\mu\text{mol/mL}$) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.

Tempos	Caseinato		Glutamina		Significância (intergrupos)
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	
T0	486,000	165,800	464,500	168,300	0,402
T1	451,100	167,400	445,600	159,200	0,802
Significância (intragrupos)	0,047*		0,414		

Nota: Dados analisados pelo teste t para variáveis emparelhadas.

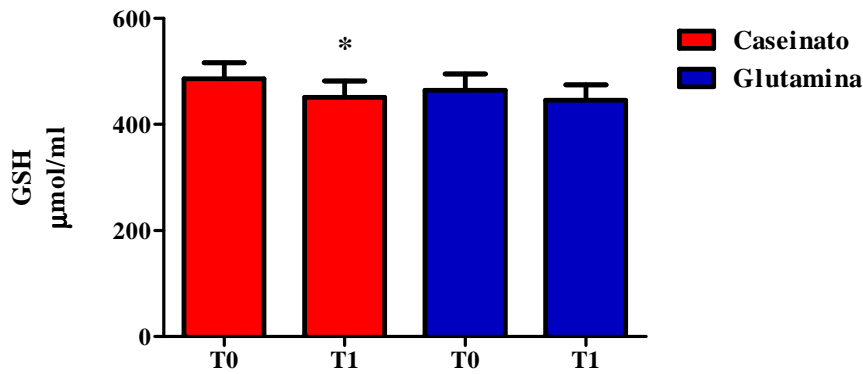


FIGURA 18 – Concentração sanguínea de GSH mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina. Dados expressos como média e desvio padrão, análise dos dados pelo teste t para comparações intragrupos e intergrupos. * $p = 0,047$ (T1 < T0 no grupo Caseinato).

4.6.2 Dosagem de TBARS em pacientes com SRIS suplementados com L-glutamina pela via enteral

A concentração sanguínea da substância reativa do ácido tiobarbitúrico (TBARS) avaliada nos tempos T0 vs T1 do grupo Caseinato e nos tempos T0 vs T1 do grupo Glutamina (comparação intragrupos) mostrou uma redução estatisticamente significativa tanto no grupo Glutamina ($p = 0,020$) como no grupo Caseinato ($p = 0,001$). Quando se compararam os grupos Caseinato vs Glutamina nos tempos T0 e T1 (comparação intergrupos) não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes (Tabela 20 e Figura 19).

TABELA 20 – Valores da mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) da concentração sanguínea de TBARS ($\mu\text{mol MDA/mL}$) mensurada nos tempos T0 e T1 em 30 indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.

Tempos	Caseinato		Glutamina		Significância intergrupos)
	Mediana	Int. Interquartil	Mediana	Int. Interquartil	
T0	20,560	14,210 – 38,590	17,670	8,155 – 34,980	0,484
T1	15,080	13,640 – 20,560	16,520	5,415 – 21,860	0,781
Significância (intragrupos)	0,001**		0,020*		

Nota: Dados analisados pelo teste de Wilcoxon.

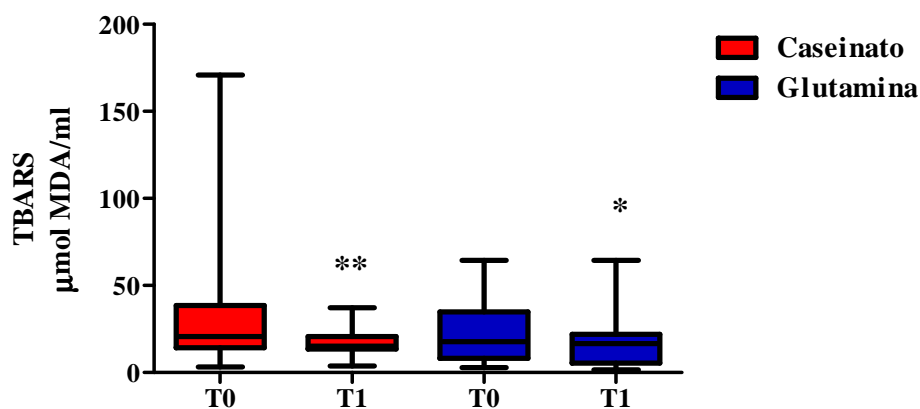


FIGURA 19 – Concentração sanguínea de TBARS mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina. Dados expressos como mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75), dados analisados pelo teste de Wilcoxon para comparações intragrupos e intergrupos. ** $p = 0,001$ (T1 < T0 no grupo Caseinato); * $p = 0,020$ (T1 < T0 no grupo Glutamina).

4.7 Efeito da suplementação de L-glutamina sobre as concentrações plasmáticas de glutamina e glutamato

4.7.1 Concentrações plasmáticas de glutamina em pacientes com SRIS suplementados com L-glutamina pela via enteral

A concentração plasmática de glutamina avaliada nos tempos T0 vs T1 do grupo Caseinato e nos tempos T0 vs T1 do grupo Glutamina (comparação intragrupos) não mostrou diferença estatisticamente significante. Quando se compararam os grupos Caseinato vs

Glutamina nos tempos T0 e T1 (comparação intergrupos) também não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes (Tabela 21 e Figura 20).

TABELA 21 – Valores da média e desvio padrão da concentração plasmática de glutamina ($\mu\text{mol/L}$) mensurada nos tempos T0 e T1 em 10 indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.

Tempos	Caseinato		Glutamina		Significância (intergrupos)
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	
T0	1666,0	672,3	1399,0	307,0	0,3460
T1	1297,0	236,5	1481,0	542,2	0,2536
Significância (intragrupos)	0,1833		0,7102		

Nota: Dados analisados pelo test t para variáveis emparelhadas.

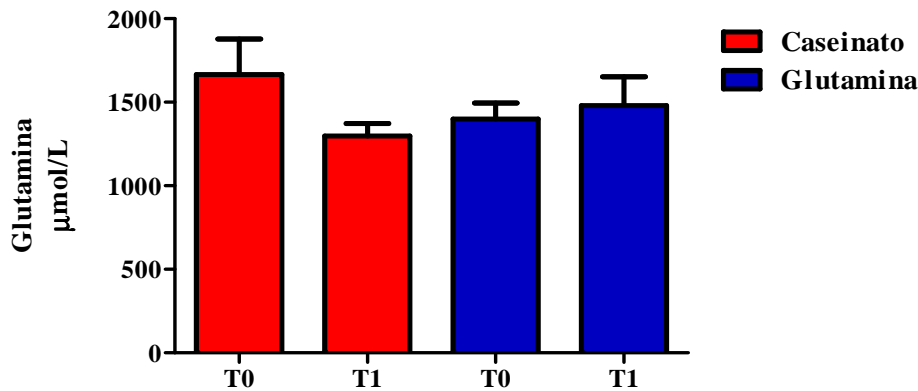


FIGURA 20 – Concentração plasmática de glutamina mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina. Dados expressos como média e desvio padrão, dados analisados pelo test t para variáveis emparelhadas para comparações intragrupos e intergrupos: não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes.

4.7.2 Concentrações plasmáticas de glutamato em pacientes com SRIS suplementados com L-glutamina pela via enteral

A concentração plasmática de glutamato avaliada nos tempos T0 vs T1 do grupo Caseinato e nos tempos T0 vs T1 do grupo Glutamina (comparação intragrupos) não mostrou diferença estatisticamente significativa. Quando se compararam os grupos Caseinato vs Glutamina nos tempos T0 e T1 (comparação intergrupos) também não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes (Tabela 22 e Figura 21).

TABELA 22 – Valores da mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) da concentração plasmática de Glutamato ($\mu\text{mol/L}$) mensurada nos tempos T0 e T1 em 10 indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.

Tempos	Caseinato		Glutamina		Significância (intergrupos)
	Mediana	Int. Interquartil	Mediana	Int. Interquartil	
T0	765,5	642,4 – 992,8	802,1	536,9 – 1101,0	0,9219
T1	832,0	706,5 – 1167,0	865,5	618,2 – 1113,0	0,7695
Significância (intragrupos)	0,6250		0,5566		

Nota: Dados analisados pelo teste de Wilcoxon.

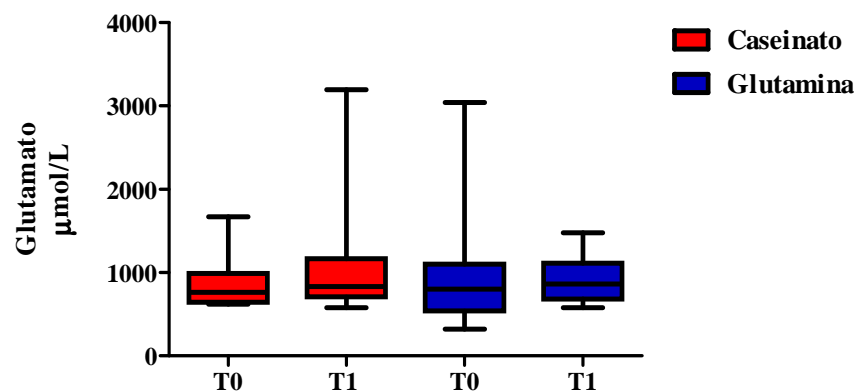


FIGURA 21 – Concentração plasmática de glutamato mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina. Dados expressos como mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75), dados analisados pelo teste de Wilcoxon para comparações intragrupos e intergrupos: não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes.

4.7.3 Razão glutamato/glutamina

A razão entre as concentrações plasmáticas de glutamato e glutamina avaliada nos tempos T0 vs T1 do grupo Caseinato e nos tempos T0 vs T1 do grupo Glutamina (comparação intragrupos) não mostrou diferença estatisticamente significativa. Quando se compararam os grupos Caseinato vs Glutamina nos tempos T0 e T1 (comparação intergrupos) também não houveram diferenças estatisticamente significantes (Tabela 23 e Figura 22).

TABELA 23 – Valores da mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) da Razão glutamina/glutamato ($\mu\text{mol/L}$) mensurados nos tempos T0 e T1 em 10 indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina.

Tempos	Caseinato		Glutamina		Significância (intergrupos)
	Mediana	Int. Interquartil	Mediana	Int. Interquartil	
T0	0,4798	0,4107 – 0,7691	0,6038	0,3655 – 0,7822	0,8457
T1	0,6930	0,5630 – 0,7850	0,6955	0,3690 – 0,8453	0,6250
Significância (intragrupos)	0,4922		0,4316		

Nota: Dados analisados pelo teste de Wilcoxon.

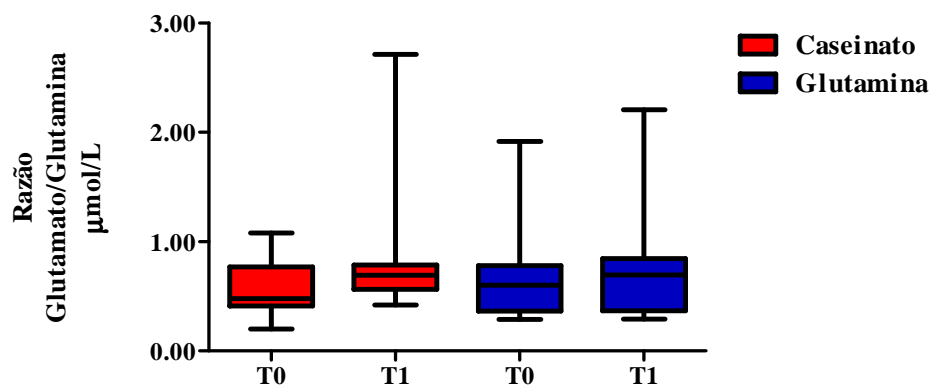


FIGURA 22 – Razão Glutamato/Glutamina mensurada antes (T0) e após (T1) o tratamento nos indivíduos dos grupos Caseinato e Glutamina. Dados expressos como mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75), dados analisados pelo teste de Wilcoxon para comparações intragrupos e intergrupos: não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes.

5 DISCUSSÃO

A coleta de dados desta pesquisa durou 14 meses. Foram avaliados 186 pacientes admitidos na UTI da Casa de Saúde e Maternidade São Raimundo que apresentavam SRIS no decorrer do período da coleta de dados. Dos trinta e seis pacientes selecionados para o presente estudo, somente trinta pacientes participaram efetivamente do início ao fim da pesquisa. Seis pacientes morreram no primeiro dia do estudo (n=3), no segundo dia (n=2) ou no quarto dia (n=1).

O diagnóstico de SRIS foi realizado pelos achados físicos e pela história clínica do paciente, corroborados com dados laboratoriais como leucograma, análise de fluidos do corpo e cultura. A SRIS se caracteriza como uma manifestação não específica do hospedeiro frente a uma variedade de condições adversas como trauma, infecção, pancreatite, toxinas e queimaduras, dentre outras situações (KUMAR; LEAPER, 2005). Embora existam ocasionalmente algum grau de incerteza, o diagnóstico e reconhecimento da SRIS geralmente não são difíceis e o diagnóstico pode ser realizado quando o paciente apresenta pelo menos dois critérios das recomendações (ACCP/SCCM CONSENSUS CONFERENCE, 1992; LEVY *et al.*, 2003). Por ocasião da admissão em UTI, muitos pacientes apresentam pelo menos três critérios, dentre os que são estabelecidos para o diagnóstico de SRIS (MARTIN; WHEELER, 2009).

No presente estudo os pacientes apresentaram em média três critérios diagnósticos de SRIS. Em sua maior parte (83,3%) se encontrou contagem anormal de leucócitos ($>12.000\text{mm}^3$), seguidos por frequência cardíaca maior que 90 batimentos/minuto (70%) e hipo $<36^\circ\text{C}$ ou hipertermia $>38^\circ\text{C}$ (60%). Dados semelhantes foram encontrados por Sprung *et al.* (2006) em estudo de coorte, multicêntrico e observacional, realizado em 196 UTI de 24 países da Europa onde observaram que 93% dos pacientes admitidos apresentavam pelo menos três sinais de SRIS, sendo os mais comumente encontrados: alterações nas frequências respiratória (84%) e cardíaca (71%), seguidas da temperatura (63%) (SPRUNG *et al.*, 2006).

Os pacientes deste estudo foram avaliados pelo critério de admissão do score APACHE II $> 10 < 20$, usado em UTI para classificar o índice de gravidade das doenças (KNAUS *et al.*, 1985). O score médio encontrado dentre os pacientes deste estudo foi 13,1, considerado moderadamente grave para o paciente portador de SRIS.

O estudo cruzado (crossover study) tem como principal vantagem a possibilidade de cada caso ser controle de si mesmo, dando a oportunidade de se controlar melhor os fatores

de confusão e, conseqüentemente, diminuir possíveis vieses. Nesta pesquisa a escolha do estudo cruzado se fez apropriada devido ao tipo de paciente que estava sendo estudado. Pela inespecificidade dos critérios clínicos, considerados no diagnóstico da SRIS, seria difícil aplicar outro tipo de estudo como, por exemplo, o estudo de caso-controle observacional. Haveria neste caso dificuldades para encontrar um paciente (controle) que fosse portador de SRIS pelas mesmas razões daquele elegido para ser estudado (caso), embora, por não fazerem diferença, os critérios inespecíficos não discriminam os mecanismos fisiopatológicos subjacentes (O'BRIEN *et al.*, 2007). Entretanto deve-se ressaltar que, existe uma limitação inerente ao estudo cruzado: trata-se do efeito residual, quando os efeitos do primeiro tratamento podem persistir durante o período em que o segundo tratamento é administrado. Esta possibilidade deve ser considerada nos resultados finais.

Diversas evidências mostraram que a glutamina se transforma em um importante aminoácido, possivelmente condicionalmente essencial, durante o estresse e outras situações clínicas. A condição de se tornar “condicionalmente essencial” aparece quando a demanda do corpo por glutamina aumenta acentuadamente e, em condições de catabolismo extremo, a utilização da glutamina plasmática excede a capacidade de síntese endógena pelo músculo esquelético e pelo fígado, sendo necessária a suplementação exógena. A glutamina circulante é um importante substrato para os enterócitos, hepatócitos e sistema imune e funciona como combustível oxidativo, bem como um substituto da glicose.

A hipótese do presente estudo foi concebida por não terem sido encontrados, na literatura consultada, estudos sobre os efeitos da nutrição enteral suplementada com glutamina, em dose nutracêutica de 30g/dia, em pacientes moderadamente graves admitidos em UTI requerendo nutrição enteral.

Existem fortes evidências na literatura mostrando que a suplementação com glutamina, em dose nutracêutica, favorece os pacientes graves, repercutindo em melhores resultados clínicos para os mesmos, especialmente quando esta suplementação é feita por nutrição parenteral (COËFFIER; DÉCHELOTTE, 2009; COËFFIER; TAMION; DÉCHELOTTE, 2009).

A suplementação com glutamina é, provavelmente, a que melhora a taxas de mortalidade dos pacientes graves (HEYLAND; DHALIWALM, 2005) e não existem evidências ou relatos sobre efeitos adversos e negativos atribuídos a sua suplementação. Alguns estudos mostram a segurança de uso deste aminoácido em dose nutracêutica via enteral, parenteral e oral, com boa tolerância clínica e nenhum efeito adverso, não existindo,

portanto, restrições ou contra-indicações para o uso de glutamina em doses nutracêuticas em indivíduos doentes (ZIEGLER *et al.*, 1990; JIANG; JIANG; FÜRST, 1999; GARCÍA-DE-LORENZO *et al.*, 2003; SENKAL *et al.*, 2004; HEYLAND; DHALIWALM, 2005; WERNERMAN, 2008; MCQUIGGAN *et al.*, 2008).

Embora não tenham encontrado nenhum efeito adverso Galera *et al.* (2010) chamam a atenção para a necessidade do monitoramento constante da função renal durante a suplementação com L-glutamina em indivíduos saudáveis de meia idade e idosos.

Neste estudo utilizou-se a dose nutracêutica de 30g/dia de L-glutamina adicionada a um litro de dieta polimérica nutricionalmente completa administrada por via enteral. Esta dose nutracêutica está dentro da faixa encontrada em outros estudos, corroborando com a literatura. O hematócrito não apresentou diferenças estatisticamente significantes na comparação intragrupos. Entretanto, se observou uma diminuição estatisticamente significativa nos níveis de hematócrito nos tempos T0 *versus* T1 do grupo Glutamina ($p=0,003$). Possivelmente, no presente estudo, esta diminuição pode estar refletindo a hemólise devido à infecção (Tabela 3, Figura 2). Galera *et al.* (2010) também observaram uma diminuição estatisticamente significativa nos níveis de hematócrito de pacientes adultos e idosos suplementados via oral com glutamina, mas esta diminuição não ultrapassou a faixa de normalidade.

Com relação ao número de leucócitos observou-se uma diminuição estatisticamente significativa tanto no grupo Caseinato como no grupo Glutamina (Tabela 4, Figura 3). A contagem anormal de leucócitos na circulação (< 4.000 células/mm³ e >12.000 células/mm³) é bastante frequente e considerada um importante critério diagnóstico na SRIS (ACCP/SCCM CONSENSUS CONFERENCE, 1992; LEVY *et al.*, 2003; MARTIN; WHEELER, 2009). Inicialmente este dado permitiu o diagnóstico dos pacientes que apresentaram SRIS por ser um dos sinais clínicos considerado nos critérios diagnósticos. Após a suplementação observou-se uma redução estatisticamente significativa no número de leucócitos no grupo Caseinato ($p=0,019$) e no grupo Glutamina ($p=0,046$) sugerindo que os pacientes dos dois grupos conseguiram reduzir o número de leucócitos e saíram do critério de SRIS, com resultados abaixo de 12.000 células/mm³ após a suplementação. Estes achados sugerem que houve melhora no quadro infeccioso dos pacientes devido a introdução da terapia nutricional suplementada com proteínas em ambos os grupos (Tabela 4, Figura 3).

No presente estudo houve um aumento estatisticamente significativo no número de linfócitos (em termos percentuais e em número absoluto de linfócitos) no grupo Glutamina ($p<0,0001$). Com relação ao percentual de linfócitos, quando comparou-se os grupos Caseinato e Glutamina, encontrou-se o T1 grupo Glutamina maior que o T1 grupo Caseinato

($p < 0,0001$). Adicionalmente houve uma redução estatisticamente significativa do percentual de linfócitos no grupo Caseinato ($T0 > T1$: $p = 0,027$) (Tabela 5, Figura 4). O número absoluto de linfócitos também apresentou um aumento estatisticamente significativo quando se comparou os grupos Caseinato e Glutamina ($T1$ grupo Glutamina $>$ $T1$ grupo Caseinato: $p < 0,0001$) e no grupo Glutamina ($T1 > T0$: $p < 0,0001$). Estes resultados sugerem que a glutamina contribuiu para aumentar a produção de linfócitos, células de proliferação rápida, com repercussão positiva sobre o sistema de defesa imune (Tabela 6, Figura 5).

Os maiores componentes celulares do sistema imune são os macrófagos e os linfócitos. Os linfócitos são um grupo heterogêneo de células envolvidas na mediação das células do sistema imune e na imunorregulação (CALDER, 1994). Alguns pesquisadores mostraram que a suplementação com L-glutamina ou com o dipeptídeo L-alanil-glutamina induz o aumento dos números de linfócitos, melhorando a resposta imune (CALDER, 1994; NEWSHOLME; CALDER, 1997; GRIFFITHS, 1997; KARINCH *et al.*, 2001; ANDREWS; GRIFFITHS, 2002).

Por outro lado, um estudo recente utilizando a nutrição parenteral suplementada com L-alanil-glutamina na dose de 0,4g/Kg/dia em pacientes graves, com score de APACHE II entre 22 e 26, não mostrou diferença estatisticamente significativa na contagem de linfócitos (CETINBAS; YELKEN; GULBAS, 2010). Estes achados sugerem que pacientes mais graves não se beneficiaram tanto da suplementação de glutamina quanto os pacientes moderadamente graves. Também é interessante ressaltar que, no presente estudo, a glutamina aumentou o percentual de linfócitos, apesar de ser administrada via enteral, indicando que este aminoácido não ficou preso nos enterócitos. O aumento no percentual de linfócitos e no número absoluto de linfócitos encontrado no presente estudo pode significar um importante desempenho na melhora do sistema imune, especialmente porque, corroborando com estes achados, se observou uma redução estatisticamente significativa do percentual de leucócitos nos dois grupos estudados. A utilização de glutamina por linfócitos, particularmente quando essas células são desafiadas por uma situação como SRIS, sugere que a suplementação exógena de glutamina pode ser importante para a função dessas células e, conseqüentemente, aumentar sua capacidade de orquestrar uma resposta imune mais eficiente.

O percentual de monócitos não apresentou alteração estatisticamente significativa na comparação dos grupos Caseinato e Glutamina e os valores se encontravam na faixa de normalidade (Tabela 7, Figura 6).

Na sepse, a ureagênese é um sintoma comum e os túbulos renais podem sofrer danos devido ao processo inflamatório e o consequente comprometimento funcional pode acentuar ainda mais o estado inflamatório, devido a reduzida excreção de citocinas pró-inflamatórias (KUMAR; LEAPER, 2005). Com relação a concentração sanguínea de uréia, observou-se uma diferença estatisticamente significativa na comparação intergrupos, sendo o T1 grupo Caseinato < T1 grupo Glutamina ($p < 0,030$) (Tabela 9, Figura 8). Entretanto, a elevação observada na uremia no grupo Glutamina não representa diferencial clínico uma vez que a elevação foi em ambos os grupos (Tabela 9, Figura 8), refletindo incremento da ureagênese como parte da resposta à sepse. Na comparação intragrupos não se observou diferenças estatisticamente significantes (Tabela 9, Figura 8).

Após cirurgias, trauma, queimaduras ou sepse os distúrbios metabólicos são caracterizados por estado catabólico, balanço de nitrogênio negativo, perda de massa magra e as perdas corporais de proteína chegam a 20% em aproximadamente três semanas, em pacientes graves internados em UTI. Esta perda ocorre principalmente durante os primeiros 10 dias e cerca de 70% desta perda protéica ocorre no músculo esquelético (PLANK; HILL, 2000).

Heyland *et al.* (2007) e Galera *et al.* (2010) encontraram em pacientes graves e indivíduos saudáveis, respectivamente, alterações na uréia durante a suplementação com L-glutamina. Galera *et al.* (2010) recomendaram que, durante a intervenção, é prudente se realizar um monitoramento constante da função renal dos pacientes como medida de segurança devido as características próprias da idade (HEYLAND *et al.*, 2007; GALERA *et al.*, 2010).

O percentual de creatinina não apresentou alterações estatisticamente significantes na comparação dos grupos Caseinato vs Glutamina no presente estudo, indicando que a função renal dos pacientes estava normal, mesmo tendo desenvolvido sepse (Tabela 10, Figura 9).

Devido ao hipermetabolismo, a hiperglicemia é comum no paciente criticamente doente, mesmo na ausência de estímulos como o diabetes subjacente (MCCOWEN *et al.*, 2001). Durante a sepse o receptor anormal de insulina e o pós-receptor podem contribuir para a resistência insulínica (DIGMAN; BORTO; NASRAWAY, 2005) e o descontrole da gliconeogênese (VAN DEN BERGH *et al.*, 2006). Isto ocorre, provavelmente, pelo aumento da produção de hormônios e citocinas circulantes devido aos estímulos estressantes, o que aumenta a gliconeogênese e produção endógena de glicose (VAN DEN BERGH *et al.*, 2006). Esse processo, combinado com resistência insulínica, leva ao estresse associado à

hiperglicemia ou diabetes induzida pelo estresse (McCOWEN; MALHOTRA; BISTRAN, 2001).

A hiperglicemia e a resistência insulínica, comuns na sepse mesmo em pacientes não diabéticos, podem causar estresse oxidativo, lesão endotelial, aumentar o rolamento de neutrófilos, acentuar o processo inflamatório e a imunossupressão (KUMAR; LEAPER, 2005). Neste estudo não houve alteração estatisticamente significativa na concentração de glicose na comparação dos grupos Caseinato vs Glutamina. Entretanto, observou-se que, para ambos os grupos, as concentrações de glicose se encontravam acima da faixa de normalidade (Tabela 11, Figura 10).

Pesquisas mostraram os benefícios da suplementação de glutamina sobre a resistência insulínica e a subsequente hiperglicemia observada após ocorrência de doenças graves. A nutrição parenteral suplementada com L-alanil-glutamina promoveu aumento da utilização de glicose em doentes graves em UTI (DECHELOTTE *et al.*, 2006). Bakalar *et al.* (2006) encontraram uma associação entre a suplementação de L-alanil-glutamina via nutrição parenteral e a redução da resistência insulínica em pacientes politraumatizados (BAKALAR *et al.*, 2006). Alves *et al.* (2005) observaram um possível efeito pró-glicolítico da L-glutamina e da L-alanil-glutamina quando ofertadas em doses nutracêuticas.

Os níveis de lactato, aminoácidos e glicerol aumentam no indivíduo em estado grave, refletindo um aumento na gliconeogênese a partir destes substratos no hipermetabolismo (CARTWRIGHT, 2004). No presente estudo a concentração de lactato não apresentou diferença estatisticamente significativa. Tal fato reflete o estado de gravidade dos pacientes que apresentaram-se moderadamente graves. A hiperlactacemia está associada ou não a acidose metabólica que ocorre em pacientes gravemente enfermos.

Fürst *et al.* (2004) relataram que a glutamina em forma de dipeptídeo parece ter um potencial benéfico como um nutriente coadjuvante durante situações clínicas associadas com a resistência insulínica, como diabetes, sepse e trauma. No presente não se encontrou diferença estatisticamente significativa na concentração sanguínea de peptídeo C, tampouco nas concentrações de insulina, que se mantiveram dentro da faixa de normalidade (FÜRST; ALTEHELD; STEHLE, 2004).

Pacientes admitidos em UTI, com ocorrência de sepse, queimaduras, pós-cirúrgicos ou com trauma, apresentam uma acelerada degradação e diminuição da síntese protéica no músculo esquelético e aumento do catabolismo de aminoácidos e nitrogênio, que os levam a ser considerados pacientes hipermetabólicos, com as necessidades de energia e

nutrientes aumentadas, requerendo assim, o mais precocemente possível, terapia nutricional (CARTWRIGHT, 2004).

Adicionalmente, nos pacientes hipermetabólicos, a síntese endógena de glutamina é insuficiente para satisfazer as demandas aumentadas deste aminoácido e uma suplementação exógena deve ser considerada (NEU; DEMARCO, 2002). É possível que a suplementação com glutamina em dose nutracêutica possa melhorar a função intestinal, a imunidade e o metabolismo protéico (BIOLO *et al.*, 1997).

A nutrição enteral tem sido um método eficaz e seguro para se nutrir os doentes graves admitidos em UTI e a sua administração precoce, pelo menos nas primeiras 24 a 48 horas, pode trazer benefícios a estes pacientes (VILA; GRAU, 2005; SIMPSON; DOIG, 2005), melhorar respostas clínicas (complicações por infecções e prolongamento da hospitalização em UTI ou enfermarias), além de ter um papel relevante na modulação do sistema imune de pacientes gravemente enfermos quando suplementada com nutracêuticos ou farmaconutrientes (MONTEJO *et al.*, 2003; GRIMBLE, 2008).

No presente estudo, os dois suplementos foram utilizados em doses nutracêuticas de 30g/dia, adicionados a 1L de dieta para nutrição enteral, nutricionalmente completa, contendo 17% de proteínas, 58% de carboidratos e 25% de lipídios, fornecendo 1,2kcal por cada 1ml de dieta. Cada 1000ml de dieta fornecia ao paciente 1200kcal, distribuídas em 200kcal protéicas, 700kcal de carboidratos, 297kcal de gorduras e 8g de nitrogênio (gN). Quando acrescida das 120kcal/dia provenientes da suplementação, a densidade calórica da dieta passou para 1,32kcal/ml perfazendo um total calórico de 1320kcal/dia.

Teixeira *et al.* (2006) avaliaram a adequação da nutrição enteral de pacientes entre 18 e 85 anos admitidos em UTI e mostraram que o volume prescrito de fórmula enteral atingiu as necessidades nutricionais de energia e esteve bem próximo de atingir as necessidades de proteína, com adequação de 74,4% e 74,1%, respectivamente (TEIXEIRA; CARUSO; SORIANO, 2006).

Ao coletarem dados de 2884 pacientes em UTI's de 37 países em 5 continentes, Alberda *et al.* (2009) examinaram a ingestão média das infusões enteral e parenteral, as quantidades de energia e proteínas ingeridas, a relação entre a quantidade de energia e proteína administrada via enteral e as respostas clínicas, bem como a extensão que esta relação exercia sobre a morbidade e o estado nutricional. Estes pesquisadores mostraram que 69% de todos os pacientes receberam nutrição enteral, 8% nutrição parenteral e 17,5% receberam tanto nutrição enteral como parenteral. Por meio da nutrição enteral, os pacientes

estudados ingeriram em média 1035 kcal/dia, 47,1g de proteína/dia e alcançaram 59,2% e 56% da energia e da proteína prescritas, respectivamente (ALBERDA *et al.*, 2009).

Ao investigarem os fatores que podem afetar a evolução da prescrição energética de pacientes gravemente enfermos Dock-Nascimento *et al.* (2005) observaram que 73,3% dos pacientes obtiveram êxito no valor energético prescrito e concluíram que a terapia nutricional precoce e o êxito na evolução da prescrição podem ser obtidos na maior parte dos pacientes graves sendo mais lenta naqueles pacientes em ventilação artificial (DOCK-NASCIMENTO; TAVARES; AGUILAR-NASCIMENTO, 2005).

A mediana do volume da infusão ingerido de dieta para nutrição enteral suplementada com glutamina ou caseinato de cálcio dos pacientes deste estudo foi 1120ml/dia (1320kcal/dia provenientes de 1L de dieta suplementada com 30g de glutamina ou caseinato de cálcio, acrescidas de 144kcal provenientes apenas de 120ml de dieta sem suplementação, perfazendo um total calórico de 1464kcal/dia). Os pacientes do presente estudo alcançaram o valor energético prescrito e receberam aproximadamente 80g de proteína/dia. Estes resultados se mostraram semelhantes aos resultados encontrados por Teixeira *et al.* (2006) (1280±368kcal e 50,8±14,7g/dia de proteína) e mais elevados que Alberda *et al.* (2009) (1034kcal e 47g/dia de proteína) com relação a administração de nutrição enteral em pacientes graves internados em UTI.

A resposta inflamatória sistêmica decorrente de cirurgias, traumas ou infecções, pode causar um aumento das demandas metabólicas e levar a depleção dos estoques de nutrientes essenciais nos pacientes. As citocinas pró-inflamatórias orquestram a resposta do hospedeiro frente a lesão e as infecções e são cruciais para as respostas imunes normais. Assim, os níveis aumentados de inflamação induzida pela produção elevada de citocinas pró-inflamatórias pode provocar uma imunossupressão (GRIMBLE, 2001; 2008).

Com relação aos efeitos da suplementação nutracêutica de glutamina sobre o processo inflamatório foram avaliadas as concentrações plasmáticas das interleucinas (IL-1, IL-6, IL-10 e TNF α) e não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes. Concernente a IL-1 observou-se que, em ambos os tempos dos grupos estudados as concentrações estavam abaixo dos valores de referência indicada no método de avaliação. Estes dados sugerem que a IL-1 não foi produzida em excesso pelo organismo, apesar da presença de inflamação sistêmica nos pacientes estudados.

Dados concernentes as concentrações de IL-10, que se encontravam dentro da faixa de normalidade, sugerem que a resposta compensatória (CARS) não foi provocada nos pacientes estudados.

Existem numerosas citocinas pró-inflamatórias, mas o TNF e a IL-1 são considerados mediadores clássicos pró-inflamatórios porque dirigem o processo inflamatório adiante e, embora o TNF α não seja o único mediador que explica a origem da sepse, é o que melhor reflete a resposta imune (BONE *et al.*, 1992). A sua produção é um elemento essencial na resposta inflamatória aguda ao trauma ou à sepse (PEREIRA JUNIOR *et al.*, 1998). No presente estudo não houve diferença estatisticamente significativa nas concentrações de TNF α nos pacientes suplementados com L-glutamina pela nutrição enteral.

Hissa (2008) não encontrou diferenças estatisticamente significantes nas concentrações de IL-1, IL-6, IL-10 e TNF α quando estudou os efeitos da suplementação endovenosa peri-operatória de L-alanil-glutamina (0,75g/Kg de peso/dia) em pacientes cardíacos submetidos a cirurgia de revascularização do miocárdio com circulação extracorpórea.

Com relação aos efeitos da suplementação nutracêutica de glutamina sobre o estresse oxidativo foram avaliadas as concentrações plasmáticas de GSH total e TBARS. O estresse oxidativo geralmente é descrito como um desequilíbrio em que os níveis de radicais livres do oxigênio ou ERO estão presentes no corpo em face da pouca disponibilidade de antioxidantes, substâncias que neutralizam e destroem estes produtos nocivos do processo metabólico (OPARA, 2006).

O oxigênio é um composto indispensável à vida que, em certas circunstâncias, pode apresentar uma forte toxicidade por meio de reações de radicais livres e formar ERO. Uma das primeiras etapas passa pela formação do ânion superóxido e, em seguida, processos oxidativos não compensados pelas defesas endógenas conduzem a um estado que caracteriza uma situação instável e potencialmente deletéria, o estresse oxidativo. O ânion superóxido, formado a partir do O₂ sob a ação de enzimas tipo oxidases e mitocondriais, pode ser transformado em peróxido de hidrogênio - H₂O₂ pela via dos superóxidos desmutases, depois em H₂O, pela via das catalases e da glutathiona peroxidase, que são as vias normais de desintoxicação e de proteção (ROCHETTE, 2008).

Os radicais livres são caracterizados como intermediários químicos particularmente interessantes na abordagem da fisiopatologia da sepse (ROCHETTE, 2008). Em indivíduos saudáveis a produção e o consumo de ERO se equilibram, porém, nos indivíduos doentes a produção excessiva destas espécies é responsável por uma situação de estresse oxidativo potencialmente implicada na fisiopatologia de diversas situações inflamatórias agudas como a SRIS, o choque séptico, síndrome do estresse respiratório no adulto, queimaduras extensas, politraumatismo, insuficiência renal e situações de isquemia-

reperfusão (ZAZZO, 2002). Victor *et al.* (2004) reuniram evidências que a produção excessiva de ERO associada a estados inflamatórios leva ao estresse oxidativo, o maior fator contribuinte para elevadas taxas de mortalidade associadas a diversas doenças (VICTOR; ROCHA; DE LA FUENTE, 2004).

Durante a doença grave ocorre liberação de mediadores inflamatórios que leva a uma produção excessiva de ERO, que potencializam a resposta inflamatória, atacam a matriz extracelular e as membranas celulares mediante a formação de peroxidação lipídica. As consequências da excessiva produção destas espécies são mais prejudiciais naqueles pacientes cuja defesa antioxidante está diminuída provocando o estresse oxidativo. Entre as defesas antioxidantes está a GSH, quantitativamente o maior antioxidante do corpo (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; BERGER, 2005; ANDRESEN; REGUEIRA; LEIGHTON, 2006). A GSH é um tripeptídeo composto pelos aminoácidos cisteína, glutamato e glicina que partilham como co-substratos da enzima glutathione peroxidase, essencial na detoxificação de peróxidos lipídicos (ABILÉS *et al.*, 2008). Alguns pesquisadores defendem que o dano proveniente de estresse oxidativo pode ser prevenido ou tratado nutricionalmente (ROTSTEIN, 2001; BERGER, 2005).

No presente estudo, quando se compararam os tempos T0 e T1 do grupo Caseinato e T0 e T1 do grupo Glutamina (comparação intragrupos), observou-se uma redução estatisticamente significativa da GSH no grupo Caseinato ($p=0,047$). Quando se compararam os grupos Caseinato *vs* Glutamina nos tempos T0 e T1, diferenças estatisticamente significantes não foram observadas (Tabela 19, Figura 18). Estes resultados sugerem que a oferta exógena de glutamina contribuiu para manter a estabilidade das concentrações séricas de GSH no grupo Glutamina, o que pode ser explicado pela manutenção da capacidade antioxidante neste grupo de pacientes.

A glutathione pode ser obtida pela oferta exógena de glutamina (BONET; GRAU, 2007) que suporta a reserva intracelular de glutamato evitando a depleção de glutathione (AMORES-SÁNCHEZ; MEDINA, 1999). Ao avaliarem em pacientes graves o efeito da suplementação parenteral de dipeptídeo L-alanil-L-glutamina sobre a peroxidação lipídica, o metabolismo da glutathione e sua relação com a morbidade destes pacientes, Abilés *et al.* (2008) observaram que os pacientes suplementados apresentaram aumentos significativos na concentração de glutathione e um incremento da atividade da enzima glutathione peroxidase (ABILÉS *et al.*, 2008).

No presente estudo, na comparação intragrupos, quando se compararam os tempos T0 e T1 do grupo Caseinato e T0 e T1 do grupo Glutamina se observou uma redução

estatisticamente significativa na concentração sanguínea de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) tanto no grupo Caseinato ($p=0,001$) como no grupo Glutamina ($p=0,020$). Quando se comparou o T0 vs T1 dos grupos Caseinato e Glutamina (comparação intergrupos) não se observou diferenças estatisticamente significantes (Tabela 20, Figura 19).

A diminuição da concentração plasmática de TBARS, em ambos os grupos estudados, sugere a capacidade da nutrição enteral suplementada com um ou outro suplemento agir como fator de proteção para peroxidação lipídica. Resultados semelhantes foram encontrados pelo Grupo Canadense de Ensaio Clínicos em Terapia Intensiva (The Canadian Critical Care Trials Group) que demonstraram que a suplementação enteral de 30g de glutamina/dia pode ter um impacto positivo sobre o estresse oxidativo em pacientes graves (HEYLAND *et al.*, 2006). Estes resultados também sugerem que a dose nutracêutica de 30g de L-glutamina/dia por nutrição enteral provavelmente teria um impacto maior sobre o estresse oxidativo se os pacientes selecionados fossem mais graves.

Alves *et al.* (2010) demonstraram redução estatisticamente significativa de TBARS e elevação de glutatona musculares em pacientes submetidos a cirurgia de revascularização de membros inferiores e pré-condicionamento com 50g de L-alanil-glutamina por via endovenosa 3 horas antes da operação.

A oferta exógena de glutamina forma glutamato por meio de tecidos ricos em glutaminase. O glutamato formado é transportado para o citosol e pode ser usado na síntese de glutatona (AMORES-SÁNCHEZ; MEDINA, 1999). Com relação aos efeitos da suplementação nutracêutica de glutamina sobre os níveis plasmáticos de glutamina e glutamato não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes, tampouco na razão entre glutamato e glutamina.

Ao determinar o valor preditivo das medidas das concentrações plasmáticas de glutamato e glutamina na fase inicial de choque séptico, Poeze *et al.* (2007) observaram que os pacientes que morriam de choque séptico com disfunção hepática apresentavam baixas concentrações plasmáticas de glutamina e glutamato, e baixos níveis na relação glutamato/glutamina nas primeiras 24 horas do choque séptico. As concentrações plasmáticas de glutamina foram significativamente menores nos não-sobreviventes [463 μ mol/L (423 e 711)] quando comparados aos controles saudáveis [651 μ mol/L (522 e 742)] e nos sobreviventes [357 μ mol/L (258 e 452)] quando comparados aos não-sobreviventes [463 μ mol/L (423-711)]. Os autores concluíram que a diminuição das concentrações plasmáticas de glutamato e da razão glutamato/glutamina é um fator preditor independente de

choque séptico com disfunção hepática, já nas primeiras 24 horas (POEZE *et al.*, 2007). No presente estudo não houve diferença estatisticamente significativa na razão glutamato/glutamina (Tabela 23, Figura 22).

Hulsewé *et al.* (2004) procuraram estabelecer a influência da depleção nutricional e inflamação nas concentrações plasmáticas de glutamina e na função da barreira intestinal de 26 pacientes em nutrição parenteral total durante sete dias e constataram que, sob condições extremas de inflamação, o metabolismo da glutamina entre os órgãos se altera significativamente.

Ao investigarem o efeito da suplementação oral de glutamina em dose nutracêutica sobre as concentrações plasmáticas de glutamina, glutamato e glutatona em três voluntários saudáveis, Valencia *et al.* (2002) observaram um aumento nos níveis de glutamina e glutamato, mas não nos níveis de glutatona. Os níveis de glutamina e glutamato antes da suplementação foram medidos nos indivíduos estudados, (465 a 575 μ mol) e (47 a 93 μ mol), respectivamente (VALENCIA; MARIN; HARDY, 2002).

Houdijk *et al.* (1998) encontraram um aumento nas concentrações plasmáticas de glutamina em pacientes graves politraumatizados que receberam nutrição enteral suplementada com 33g/dia de glutamina.

Para Oudemans van-Straaten *et al.* (2001) um apreciável número de pacientes apresenta concentrações plasmáticas de glutamina marcadamente altas, provavelmente indicando aumento da produção de glutamina pelo músculo esquelético ou diminuição de absorção hepática. Para estes pesquisadores a interpretação das concentrações plasmáticas de glutamina pode ser confusa porque durante o estresse metabólico, o fluxo alterado de aminoácidos pode, ou não, se refletir em mudanças nas concentrações plasmáticas de aminoácidos (OUDEMANS VAN-STRAATEN *et al.* 2001).

Com base na literatura disponível observou-se que a interpretação dos resultados das concentrações plasmática de glutamina e glutamato são conflitantes. No presente estudo não houve diferença estatisticamente significativa nas concentrações plasmáticas de glutamina, glutamato e na razão glutamato/glutamina. Durante o estresse metabólico que, provavelmente, ocorreu nos pacientes do presente estudo, ocorre um maior fluxo de glutamina entre órgãos. Portanto, com base na literatura disponível, a oferta exógena de glutamina deve ser necessária em condições de trauma intenso porque, nestas condições, o balanço de glutamina está negativo.

Diversos estudos demonstraram que a nutrição suplementada com glutamina em doses nutracêuticas repercute positivamente na sepse, SRIS, sistema imune, processos

infeciosos e inflamatórios, metabolismo glicolítico e estresse oxidativo de pacientes graves, especialmente quando esta suplementação é realizada por meio da nutrição parenteral (GRIFFITHS; JONES; PALMER, 1997; GRIFFITHS *et al.*, 2002; DUGGAN *et al.*, 2004; FUENTES-OROZCO *et al.*, 2004; SINGLETON; BECKEY; ZIEGLER *et al.*, 2005; HEYLAND *et al.*, 2006; HUBERT-BURON *et al.*, 2006; WISCHMEYER, 2007; FUENTES-OROZCO *et al.*, 2008; MONDELLO *et al.*, 2010; ALVES *et al.*, 2010) e, principalmente, utilizando na suplementação dipeptídios como o L-alanil-glutamina (FÜRST; ALTEHELD; STEHLE, 2004; JIANG; JIANG; FÜRST, 2004). Entretanto, existem poucos trabalhos na literatura com suplementação de L-glutamina pela via enteral em humanos mostrando resultados positivos (NEU *et al.*, 1997; HOUDIJK *et al.*, 1998; JONES; PALMER; GRIFFITHS, 1999; SENKAL *et al.*, 2004; HEYLAND *et al.*, 2006).

Algumas questões podem ser discutidas. A via de administração teria influência? Cynober (2001) reuniu e comparou os resultados de nove estudos com pacientes graves, internados em UTI, em reanimação ou não, que receberam glutamina via parenteral e enteral. Oito dos nove estudos deram resultados para o grupo de glutamina quando esta foi administrada por nutrição parenteral (CYNOBER, 2001). Uma das razões que poderiam explicar esta discrepância é o fato da glutamina, quando administrada via enteral, sofrer uma extração esplânica extremamente importante. Estudos em que a glutamina foi dada pelas duas vias, parenteral e enteral, indicam que, entre 64 a 74% desse aminoácido, administrado via enteral, é extraído durante a primeira passagem do metabolismo esplânico (intestino e fígado) onde é largamente oxidada (BIOLO *et al.*, 2005).

O conjunto destes dados sugere que a glutamina, quando administrada via enteral, para ter eficácia, deve ser oferecida em quantidade elevada. Para Cynober (2001) isto pode explicar porque o estudo de Houdijk *et al.* (1998), cujos pacientes receberam 33g/dia de glutamina, obteve resultados positivos. Usualmente, a maioria dos trabalhos encontrados na literatura utiliza a dose nutracêutica entre 18 e 32g de glutamina/dia (CYNOBER, 2001), faixa em que se encontra a dose nutracêutica utilizada no presente estudo (30g/dia). No presente estudo, apesar da extração esplânica, observou-se um efeito sistêmico com a oferta de L-glutamina via nutrição enteral.

Uma segunda questão diz respeito aos pacientes. Quais são efetivamente os pacientes que podem se beneficiar com nutrição artificial suplementada com glutamina? Indiscutivelmente a compreensão da influência da glutamina sobre o sistema imune permitiu melhor definir a sua aplicação clínica. A literatura mostra que os pacientes que melhor se beneficiaram com dietas suplementadas com glutamina em dose nutracêutica foram pacientes

graves, com queimadura e trauma que receberam glutamina por nutrição parenteral. Roth (2007) hipotizou, com base em diversos estudos experimentais, que uma administração efetiva de glutamina somente é necessária em pacientes com significativa redução das concentrações plasmáticas de glutamina. Para ele, somente este tipo de paciente realmente pode se beneficiar da administração de glutamina (ROTH, 2007). Esta hipótese é confirmada pelo fato da depleção de glutamina plasmática ser um fator independente adicional ao score APACHE II para predição da mortalidade de pacientes graves admitidos em UTI (OUDEMANS VAN-STRAATEN *et al.* 2001).

O presente estudo procurou mostrar os efeitos da nutrição enteral suplementada com L-glutamina em dose nutracêutica em pacientes moderadamente graves, com APACHE II $>10 < 20$. Provavelmente os resultados deste estudo foram influenciados pela seleção dos pacientes estudados que, embora tenham desenvolvido a SRIS, eram moderadamente graves. Embasando-se na literatura consultada, pacientes com APACHE II > 20 , poderiam melhor se beneficiar da suplementação com glutamina, no que diz respeito à redução das concentrações das interleucinas pró-inflamatórias.

Entretanto, a suplementação de L-glutamina por nutrição enteral em dose nutracêutica de 30g/dia mostrou-se eficiente na dose utilizada. Esta dose nutracêutica mostrou que a L-glutamina tem ação sobre a produção de células de proliferação rápida, como os linfócitos; sobre TBARS, mostrando um possível efeito de proteção para peroxidação lipídica; sobre a glutathione, mostrando a manutenção da capacidade antioxidante no grupo Glutamina e, principalmente, os cuidados que se deve ter na suplementação de aminoácidos em dose elevadas sobre a função renal de pacientes com sepse.

Concernente ao caseinato de cálcio, apesar das características de boa digestibilidade e absorção, também se constitui uma fonte protéica, podendo influenciar os resultados. Entretanto, a escolha do caseinato de cálcio foi devido, principalmente, a ser uma fonte protéica que não contém glutamina na sua composição aminoacídica (APÊNDICE E).

O estudo cruzado apresenta a vantagem de o paciente ser seu próprio controle, mas impõe um curto tempo de suplementação, uma vez que a evolução clínica de pacientes graves ocorre de forma muito rápida. Este tipo de estudo também apresenta limitações, devido a possibilidade constante de haver efeito residual.

O tempo curto de suplementação do presente estudo (dois dias para cada suplemento) pode ter contribuído para mascarar a redução da resposta inflamatória destes

pacientes. Portanto, há necessidade da realização de mais estudos clínicos randomizados, com terapia nutricional enteral suplementada com glutamina em pacientes moderadamente graves, com possibilidade de períodos de suplementação mais longos.

6 CONCLUSÃO

1 - A oferta de glutamina na nutrição enteral não afeta as concentrações plasmáticas de glutamina e glutamato, nem os indicadores do metabolismo glicolítico.

2 - Nutrição enteral suplementada com glutamina ou caseinato de cálcio contribui para reduzir a peroxidação lipídica nos pacientes estudados.

3 - A suplementação de glutamina adicionada na nutrição enteral aumenta o número e percentual de linfócitos, mas não afeta a concentração dos mediadores pró e antiinflamatórios no sangue.

4 - A terapia nutricional enteral suplementada com glutamina mantém a estabilidade das concentrações séricas de glutathione, com consequente manutenção da capacidade antioxidante, refletindo o papel deste aminoácido como precursor de glutathione.

REFERÊNCIAS

- ABILÉS, J.; MORENO-TORRES, R.; MORATALLA, G.; CASTAÑO, J.; ABÚD, R. P.; MUDARRA, A.; MACHADO, M^a. J.; PLANELLS, E.; DE LA CRUZ, A. P. Efectos de la suplementación con glutamina sobre el sistema antioxidante y la peroxidación lipídica en pacientes críticos con nutrición parenteral. **Nutrición Hospitalaria**, v. 23, p. 332-339, 2008.
- ADIB-CONQUY, M.; CAVAILLON, J. M. Stress molecules in sepsis and systemic inflammatory response syndrome. **FEBS Letters**, v. 581, p. 3723 – 3733, 2007.
- AGUILAR-NASCIMENTO, J. E.; DOCK-NASCIMENTO, D. B.; BRAGAGNOLO, R. Role of enteral nutrition and pharmaconutrients in conditions of splanchnic hypoperfusion. **Nutrition**, v. 26 p. 354 – 358, 2010.
- ALBERDA, C.; GRAMLICH, L.; JONES, N.; JEEJEEBHOY, K.; DAY, A. G.; DHALIWAL, R.; HEYLAND, D. K. The relationship between nutritional intake and clinical outcomes in critically ill patients: results of an international multicenter observational study. **Intensive Care Medicine**, v. 35, p. 1728 – 1737, 2009.
- ALVES, M. A.; GUIMARÃES, S. B.; DIAS, S. A.; VASCONCELOS, P. R. C.; VASCONCELOS, P. R. L. Efeitos da L-alanil-glutamina sobre os parâmetros bioquímicos do sangue e do rim no rato submetido a isquemia/reperfusão do membro pélvico. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 20, n. 6, p. 445 – 449, 2005.
- ALVES, W. F.; AGUIAR, E. E.; GUIMARÃES, S. B.; FILHO, A. R. S.; PINHEIRO, P. M. A.; SOARES, D. S. D.; VASCONCELOS, P. R. L. L-Alanyl-Glutamine Preoperative Infusion in Patients with Critical Limb Ischemia Subjected to Distal Revascularization Reduces Tissue Damage and Protects from Oxidative Stress. **Annals of Vascular Surgery**, v. 24, p. 461 – 467, 2010.
- AMERICAN COLLEGE OF CHEST PHYSICIANS/SOCIETY OF CRITICAL CARE MEDICINE CONSENSUS CONFERENCE: Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. **Chest**, v. 101, n. 6, p. 1644 – 1655, 1992.
- AMORES-SÁNCHEZ, M. I.; MEDINA, M. A. Glutamine, as a Precursor of Glutathione, and Stress Oxidative. **Molecular Genetics and Metabolism**, v. 67, p.100 – 105, 1999.
- AMSTRONG, D.; BROWNE, R. The analysis of free radicals, lipid peroxides, antioxidant enzymes and compounds to oxidative stress as applied to the clinical chemistry laboratory. **Free Radic. Diagn. Med.**, v. 366, p. 45 – 58, 1994.

ANDRESEN, M. H.; REGUEIRA, T.; LEIGHTON, F. Oxidative stress in critically ill patients. **Revista Médica de Chile**, v. 134, p. 649 – 656, 2006.

ANDREWS, F.; GRIFFITHS, R. D. Glutamine: essential for immune nutrition in the critically ill. **British Journal of Nutrition**, v. 3, Suppl. 1, p. S3 – S8, 2002.

ARRUDA, I.S.; AGUILAR-NASCIMENTO, J. E. Benefits of early enteral nutrition with glutamine and probiotics in brain injury patients. **Clinical Science**, v. 106, p. 287 – 292, 2004.

BAKALAR, B.; DUSKA, F.; PACHL, J.; FRIC, M.; OTAHAL, M.; PAZOUT, J.; ANDEL, M. Parenterally administered dipeptide alanyl-glutamine prevents worsening of insulin sensitivity in multiple-trauma patients. **Critical Care Medicine**, v. 34, p. 381 –386, 2006.

BANDT, J. P. D. Acides aminés conditionnellement essentiels: glutamine, arginine et immunité. **Nutrition Clinique et Métabolisme**, v. 10, p. 35 – 36, 1996.

BASTIAN, L.; WEIMANN, A. Immunonutrition in patients after multiple trauma. **British Journal of Nutrition**, v. 87, Suppl. 1, p. S133 – S134, 2002.

BENJAMIM, C. Atualização sobre mediadores em modelos experimentais em sepse. **Medicina**, v. 34, p. 18 – 26, 2001.

BENZIE, I. F. F. Lipid peroxidation: a review of causes, consequences, measurements and dietary influences. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v.47, n. 3, p. 233 – 261, 1996.

BERG, R. D. Bacterial translocation from the gastrointestinal tract. **Trends in Microbiology**, v. 3, n. 4, p. 149 – 154, 1995.

BERGER, M. M. Can oxidative damage be treated nutritionally? **Clinical Nutrition**, v. 24, p. 172 – 183, 2005.

BIOLO, G.; TOIGO, G.; CIOCCHI, BENIAMINO.; SITULIN, R.; ISCRA, F.; GULLO, A.; GUARNIERI, G. Metabolic Response to Injury and Sepsis: Changes in Protein Metabolism. **Nutrition**, v. 13, n. 9, Suppl., 1997.

BONE, R. C. The pathogenesis of sepsis. **Annals of Internal Medicine**, v. 115, p. 457 – 469, 1991.

BONE, R. C.; BALK, R. A.; CERRA, F. B.; DELLINGER, P. R.; FEIN, A. M.; KNAUS, W. A.; et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. **Chest**, v. 10, p. 1644 – 55, 1992.

BONE, R. C.; GRODZIN C. J.; BALK, R. A. Sepsis: A New Hypothesis for Pathogenesis of the Disease Process. **Chest**, v. 112, p. 235 – 243, 1997.

BONET, A.; GRAU, T. La glutamina, un aminoácido casi indispensable en el enfermo crítico. **Medicine Intensiva**, v. 31, n. 7, p. 402 – 406, 2007.

BONGERS, T.; GRIFFITHS, R. D.; McARDLE, A. Exogenous glutamine: The clinical evidence. **Critical Care Medicine**, v. 35, n. 9, Suppl., p. S545 – S552, 2007.

BOSSI, P.; GRIMALDI, D.; CAILLE, V.; VIEILLARD-BARON, A. Diagnostic de sépsis, du sépsis sévère et du choc séptique. **Presse Médicale**, v. 33, p. 262 – 4, 2004.

BUCHMAN, A. L. Glutamine: commercially essential or conditionally essential? A critical appraisal of the human data. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 74, p. 25 – 32, 2001.

BUYALOS, R. P.; WATSON, J. M.; MARTINEZ-MAZA, O. Detection of IL-6 in Human Follicular Fluid. **Fertility and Sterility**, v. 70, n. 3, p. 425 – 431, 1998.

BURRIN, D. G.; STOLL, B.; JIANG, R.; CHANG, X.; HARTMANN, B.; HOLST, J. J.; GREELEY JR, G. H.; REEDS, P. J. Minimal enteral nutrient requirements for intestinal growth in neonatal piglets: how much is enough? **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 71, p. 1603 – 1610, 2000.

BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R. **Tietz textbook of clinical chemistry**. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1994.

CALDER, P. C. Glutamine and the immune system. **Clinical Nutrition**, v. 13, p. 2 – 8, 1994.

CAMPOS, A. B.; SILVA, L. F. G.; MARINHO, L. E.; CHAVES, C. R.; MARTINS, M. C. R.; QUEIROZ, D. A. F.; LEITÃO-FILHO, P. R.; VASCONCELOS, P. R. L. Efeitos da L-Alanil-Glutamina sobre a Concentração *in vivo* de Metabólitos da Via Glicolítica durante Isquemia-Reperusão de Intestino Delgado em Ratos Wistar. **Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva**, v. 15, n. 2, p. 63 – 66, 1996.

CARTWRIGHT, M. M. The metabolic response to stress: a case of complex nutrition support management. **Critical Care Nursig Clinics of North America**, v. 16, p. 467 – 487, 2004.

CARVALHO, P. R. A.; TROTTA, E. A. Avanços no diagnóstico e tratamento de sepse. **Jornal de Pediatria**, v. 79, n. 2, p. 195 – 204, 2003.

CECCON, M. E. J. R.; VAZ, F. A. C.; DINIZ, E. M. A.; OKAY, T. S. Interleucina-6 e Proteína C Reativa no Diagnóstico de Sepse Tardia no Recém-Nascido. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 52, n. 2, p. 79 – 85, 2006.

CETINBAS, F.; YELKEN, B.; GULBAS, Z. Role of glutamine administration on cellular immunity after total parenteral nutrition enriched with glutamine in patients with systemic inflammatory response syndrome. **Journal of Critical Care**, 2010. in Press. doi: 10.1016/j.jcrc.2010.03.011, 2010.

COËFFIER, M.; BARRACHINA, O. M.; LE PESSOT, F.; LALAUD, O.; DAVEAU, M.; LAVOINNE, A.; LEREBOURS, E.; DÉCHELOTTE, P. Influence of glutamine on cytokine production by human gut *in vitro*. **Cytokine**, v. 13, n. 3, p. 148 – 154, 2001.

COËFFIER, M.; MARION, R.; DUCROTTÉ, P.; DÉCHELOTTE, P. Modulating effect of glutamine on IL-1 β -induced cytokine production by human gut. **Clinical Nutrition**, v. 22, n. 4, p. 407 – 413, 2003.

COËFFIER, M.; DÉCHELOTTE, P. Parenteral glutamine in critically ill patients: effects on complication rate and glucose homeostasis. **Clinical Nutrition Supplements**, v. 1, p. 33 – 6, 2004.

COËFFIER, M.; DÉCHELOTTE, P. The role of glutamine in intensive care unit patients: mechanisms of action and clinical outcome. **Nutrition Reviews**, v. 63, p. 65 – 9, 2005.

COËFFIER, M.; TAMION, F.; DÉCHELOTTE, P. Supplémentation parentérale en glutamine en réanimation: preuves cliniques et mécanismes d'action. **Réanimation**, v. 18, p. 506 – 510, 2009.

COËFFIER, M.; DÉCHELOTTE, P. Mécanismes d'action potentiels de la glutamine chez le patient agressé. **Nutrition Clinique et Métabolisme**, v. 23, p. 133-136, 2009.

CONEJERO, R.; BONET, A.; GRAU, T.; ESTEBAN, A.; MESEJO, A.; MONTEJO, J. C.; LÓPEZ, J.; ACOSTA, J. A. Effect of a Glutamine-Enriched Enteral Diet on Intestinal Permeability and Infectious Morbidity at 28 days in Critically Ill Patients With Systemic Inflammatory Response Syndrome: A Randomized, Single-Blind, Prospective, Multicenter Study. **Nutrition**, v. 18, p. 716 – 721, 2002.

CRUZAT, V. F.; PETRY, E. R.; TIRAPEGUI, J. Glutamina: Aspectos Bioquímicos, Metabólicos, Moleculares e Suplementação. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 15, n. 5, p. 392 – 397, 2009.

CYNOBER, L. Médiateurs de l'inflammation: contrôle par les nutriments azotes. **Nutrition Clinique et Métabolisme**, v. 14, p. 194 – 200, 2000.

CYNOBER, L. Les pharmanutriments azotés: de tube à essai à la pratique clinique. **Nutrition Clinique et Métabolisme**, v. 15, p. 131 – 143, 2001.

CYNOBER, L. Acides aminés possédant des propriétés pharmacologiques: de l'empirisme à la clarification des cibles moléculaires. **Nutrition Clinique et Métabolisme**, v. 20, p. S7 – S12, 2006.

DECHELOTTE, P.; HASSELMANN, M.; CYNOBER, L.; ALLAOUCHICHE, B.; COËFFIER, M.; HECKETSWEILER, B. et al. L-alanyl-L-glutamine dipeptide-supplemented total parenteral nutrition reduces infectious complications and glucose intolerance in critically ill patients: The French controlled, randomized, double-blind, multicenter study. **Critical Care Medicine**, v. 34, n. 3, p. 598 – 604, 2006.

DEMLING, R. H.; La LONDE, C.; SALDINGER, P.; KNOX, J. Multiple organ dysfunction in the surgical patient: Pathophysiology, prevention and treatment. **Current Problems in Surgery**, v. 30, p. 347 – 414, 1993.

DE-SOUZA, D. A.; GREENE, L. J. Intestinal permeability and systemic infections in critically ill patients: Effect of glutamine. **Critical Care Medicine**, v. 33, p. 1125 – 1135, 2005.

DIGMAN, C.; BORTO, D.; NASRAWAY Jr, S. A. Hyperglycemia in the Critically Ill. **Nutrition in Clinical Care**, v. 8, n. 2, p. 93 – 101, 2005.

DOCK-NASCIMENTO, D. B.; TAVARES, V. M.; AGUILAR-NASCIMENTO, J. E. Evolution of nutritional therapy prescription in critically ill patients. **Nutrición Hospitalaria**, v. 20, p. 343 – 347, 2005.

DROST, A. C.; BURLESON, D. G.; CIOFFI, W. G.; MASON, A. D.; PRUITT, B. A. Plasma cytokines after thermal injury and their relationship to infection. **Annals of Surgery**, v. 218, p. 74 – 78, 1993.

D'SOUBA, R. Glutamine supplements in the critically ill. **Journal of the Royal Society of Medicine**, v. 97, p. 425 – 427, 2001.

DUPERTIUS, Y. M.; RAGUSO, C. A.; PICHARD, C. Basics in clinical nutrition: Nutrients which influence immunity – Clinical and experimental data. **European e-Journal of Clinical Nutrition and Metabolism**, v. 4, p. e7 – e9, 2009.

DUGGAN, C.; STARK, A. R.; AUESTAD, N.; COLLIER, S.; FULHAN, J.; GURA, KATHLEEN.; UTTER, S.; TEIXEIRA-PINTO, A.; DONOVAN, K.; LUND, D. Glutamine Supplementation in Infants With Gastrointestinal Disease: A Randomized, Placebo-Controlled Pilot Trial. **Nutrition**, v. 20, p. 752 – 756, 2004.

ESCOSTEGUY, C. C. Tópicos Metodológicos e Estatísticos em Ensaio Clínico Controlado Randomizado. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 72, n. 2, p. 139 – 143, 1999.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 43, n. 1, p. 1 – 17, 1997.

FLARING, U. B.; ROOYACKERS, O. E.; WERNERMAN, J.; HAMMARQVIST, F. Glutamine attenuates post-traumatic glutathione depletion in human muscle. **Clinical Science**, v. 104, p. 275 – 282, 2003.

FRANCIS, R.; MICHEL, H. Avec quoi nourrir l'intestin agressé? **Nutrition Clinique et Métabolisme**, v. 14, p. 341 – 349, 2000.

FÜRST, P.; POGAN, K.; STEHLE, P. Glutamine Dipeptides in Clinical Nutrition. **Nutrition**, v. 13, p. 731 – 737, 1997.

FÜRST, P.; ALTEHELD, B.; STEHLE, P. Why should a single nutrient – glutamine – improve outcome? The remarkable story of glutamine dipeptides. **Clinical Nutrition Supplements**, v. 1, p. 3 – 15, 2004.

FÜRST, P. Basics in clinical nutrition: Special substrates for parenteral nutrition. **European e-Journal of Clinical Nutrition and Metabolism**, v. 4, p. e53 – e54, 2009.

FUENTES-OROZCO, C.; CERVANTES-GUEVARA, G.; MUCIÑO-HERNÁNDEZ, I.; LÓPEZ-ORTEGA, A.; AMBRIZ-GONZÁLEZ, G.; GUTIÉRREZ-DE-LA-ROSA, J. L.; GÓMEZ-HERRERA, E.; HERMOSILLO-SANDOVAL, J. M.; GONZÁLEZ-OJEDA, A. L-alanyl-L-glutamine-supplemented parenteral nutrition decreases infectious morbidity rate in

patients with severe acute pancreatitis. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 32, p. 403 – 411, 2008.

FUENTES-OROZCO, C.; ANAYA-PRADO, R.; GONZÁLEZ-OJEDA, A.; ARENAS-MÁRQUEZ, H.; CABRERA-PRIVARAL, C.; CERVANTES-GUEVARA, G.; BARRERA-ZEPEDA, L. L-alanyl-l-glutamine-supplemented parenteral nutrition improves infectious morbidity in secondary peritonitis. **Clinical Nutrition**, v. 23, p. 13 – 21, 2004.

GALERA, S.C.; FECHINE, F. V.; TEIXEIRA, M. J.; COELHO, Z. C. B.; VASCONCELOS, R. C.; VASCONCELOS, P. R. L. The safety of oral use of L-glutamine in middle-aged and elderly individuals. **Nutrition**, v. 26, p. 375 – 381, 2010.

GARCIA-DE-LORENZO, A.; ZARAZAGA, A.; GARCIA-LUNA, P. P.; GONZALEZ-HUIX, F.; LÓPEZ-MARTÍNEZ, J.; MIJÁN, A.; QUECEDO, L.; CASIMIRO, C.; USÁN, L.; LANO, J. Clinical Evidence for Enteral Nutritional Support With Glutamine: A Systematic Review. **Nutrition**, v. 19, p. 805– 811, 2003.

GRAMLICH, L.; KICHIAN, K.; PINILLA, J.; RODYCH, N. J.; DHALIWAL, R.; HEYLAND, D. K. Does Enteral Nutrition Compared to Parenteral Nutrition Result in Better Outcomes in Critically Ill Adult Patients? A Systematic Review of the Literature. **Nutrition**, v. 20, p. 843 – 848, 2004.

GRIFFITHS, R. D. Outcome of Critically Ill Patients after Supplementation with Glutamine. **Nutrition**, v. 3, p. 752 – 754, 1997.

GRIFFITHS, R. D.; JONES, C.; PALMER, T. E. A. Six month outcome of critically ill patients given glutamine-supplemented parenteral nutrition. **Nutrition**, v.13, n. 4, p. 295 – 302, 1997.

GRIFFITHS, R. D.; ALLEN, K. D.; ANDREWS, F. J.; JONES, C. Infection, multiple organ failure, and survival in the intensive care unit: Influence of glutamine-supplemented parenteral nutrition on acquired infection. **Nutrition**, v.18, p. 546 – 552, 2002.

GRIFFITHS, R. D. The evidence for glutamine use in the critically ill. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.60, p. 403 – 410, 2001.

GRIMBLE, R. F. Nutritional modulation of cytokine biology. **Nutrition**, v. 14, n. 7/8, p. 634 – 640, 1998.

GRIMBLE, R. F. Nutritional modulation of immune function. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 60, 389 – 397, 2001.

GRIMBLE, R. F. Basics in clinical nutrition: Immunonutrition – Nutrients which influence immunity: Effect and mechanism of action. **European e-Journal of Clinical Nutrition and Metabolism**, v. 4, p. e10 – e13, 2008.

GÜVEN, A.; PEHLIVAN, M.; GÖKPINAR, I.; GÜRLEYİK, E.; ÇAM, M. Early glutamine-enriched enteral feeding facilitates colonic anastomosis healing: Light microscopic and immunohistochemical evaluation. **Acta Histochemica**, v. 109, p. 122 – 129, 2007.

HALLIWELL, B.; CHIRICO, S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 57, p.715S – 724S, 1993.

HASENBOEHLER, E.; WILIAMS, A.; LEINHASE, I.; MORGAN, S. J.; SMITH, W.; MOORE, E. E.; STAHEL, P. F. Metabolic changes after polytrauma: an imperative for early nutritional support. **World Journal of Emergency Surgery**, v. 1, n. 29, p. 1 – 7, 2006.

HENRY, J. B. **Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais**. 2. ed. Sao Paulo: Manole, 1999.

HEYLAND, D. K.; DHALIWALM, R. Immunonutrition in the critically ill: from old approaches to new paradigms. **Intensive Care Medicine**, v. 31, p. 501 – 503, 2005.

HEYLAND, D. K.; DHALIWALM, R.; DAY, A. G.; MUSCEDERE, J.; DROVER, J.; SUCHNER, U.; *et al.* Canadian Critical Care Trials Group. Reducing deaths due to oxidative stress (The REDOXS Study): rationale and study design for a randomized trial of glutamine and antioxidant supplementation in critically-ill patients. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 65, p. 250 – 263, 2006.

HEYLAND, D. K.; DHALIWALM, R.; DAY, A.; DROVER, J.; COTE, H.; WISCHMEYER, P. Dose-Finding Study Optimizing the Dose of Glutamine Dipeptides and Antioxidants in Critically Ill Patients: A Phase I Dose-Finding Study. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 31, n. 2, p. 109 – 118, 2007.

HOUDIJK, A. P. J.; RIJNSBURGER, E. R.; JANSE, J.; WESDORP, R. I. C.; WEISS, J. K.; McCAMISH, M. A.; TEERLINK, T.; MEUWISSEN, S. G. M.; HAARMAN, H. J. T. M.; THIJS, L.; VAN LEEUWEN, P. A. M. Randomised trial of glutamine-enriched enteral nutrition on infectious morbidity in patients with multiple trauma. **Lancet**, v. 352, n. 5, p. 1 – 5, 1998.

HOWARD, P. Basics in clinical nutrition: Enteral nutrition. **European e-Journal of Clinical Nutrition and Metabolism**, v. 4, n. 5, p. e223 – e225, 2009.

HUBERT-BURON, A.; LEBLOND, J.; JACQUOT, A.; DUCROTTE, P.; DECHELOTTE, P.; COËFFIER, M. Glutamine pretreatment reduces IL-8 production in human intestinal epithelial cells by limiting IkappaBalpha ubiquitination. **Journal of Nutrition**, v. 136, p. 1461 – 1465, 2006.

HULSEWÉ, K. W. E.; VAN DER HULST, R. W. W. J.; VAN ACKER, B. A. C.; VON MEYENFELDT, M. F.; SOETERS, P. B. Inflammation rather than nutritional depletion determines glutamine concentrations and intestinal permeability. **Clinical Nutrition**, v. 23, p. 1209 – 1216, 2004.

JEEJEEBHOY, K. N. Nutritional Support/Adults, Enteral. *In: Encyclopedia of Human Nutrition*. 2nd ed. Toronto: University of Toronto, 2005. p. 342 – 348.

JIANG, Z.; JIANG, H.; FÜRST, P. The impact of glutamine dipeptides on outcome of surgical patients: systematic review of randomized controlled trials from Europe and Asia. **Clinical Nutrition Supplements**, v. 1, p. 17 – 23, 2004.

JIANG, Z. M.; CAO, J. D.; ZHU, X. G.; ZHAO, W. X.; YU, J. C.; MA, E. L.; WANG, X. R.; ZHU, M. W.; SHU, H.; LIU, Y. W. 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. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 23, p. 62S – 66S, 1999.

JOLLIET, P.; PICHARD, C.; BIOLO, G.; CHIOLIÉRO, R.; GRIMBLE, G.; LEVERVE, X.; NITENBERG, G.; NOVAK, I.; PLANAS, M.; PREISER, J. C.; ROTH, E.; SCHOLS, A. M.; WERNERMAN, J. Enteral nutrition in intensive care patients: a practical approach. **Clinical Nutrition**, v. 18, n. 1, p. 47 – 56, 1999.

JONES, C.; PALMER, A.; GRIFFITHS, R. D. Randomized Clinical Outcome Study of Critically Ill Patients Given Glutamine-Supplemented Enteral Nutrition. **Nutrition**, v. 15, n. 2, p. 108 – 115, 1999.

KANDIL, H. M.; ARGENZIO, R. A.; CHEN, W.; BERSCHNEIDER, H. M.; STILES, A. D.; WESTWICK, J. K. *et al.* L-glutamine and L-asparagine stimulate ODC activity and proliferation in a porcine jejunal enterocyte line. **American Journal of Physiology**, v. 269, p. G591 – G599, 2000.

KARINCH, A. M.; PAN, M.; LIN, C. M.; STRANGE, R.; SOUBA, W. W. Glutamine Metabolism in Sepsis and Infection. **Journal of Nutrition**, v. 131, p. 2535S – 2538S, 2001.

KIEFT, H.; ROOS, A. N.; VAN DRUNEN, J. D. E.; BINDELS, A. J. G. H.; BINDELS, J. G.; HOFMAN, Z. Clinical outcome of immunonutrition in a heterogeneous intensive care population. **Intensive Care Medicine**, v. 31, p. 524 – 532, 2005.

KNAUS, W. A.; DRAPER, E. A.; WAGNER, D. P.; ZIMMERMAN, J. E. APACHE II: A severity of disease classification system. **Critical Care Medicine**, v. 13, p. 818 – 829, 1985.

KNAUS, W. A. APACHE 1978 – 2001: The development of a quality assurance system based on prognosis: Milestones and personal reflections. **Archives of Surgery**, v.137, p. 37 – 41, 2002.

KREBS, H. A. Metabolism of amino acids. IV. The synthesis of glutamine from glutamic acid and ammonia, and the enzymatic hydrolysis of glutamine in animal tissue. **Biochemical Journal**, v. 29, 1935.

KUHN, K. S.; MUSCARITOLI, M.; WISCHMEYER, P.; STEHLE, P. Glutamine as indispensable nutrient in oncology: experimental and clinical evidence. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 49, p. 197 – 210, 2010.

KUMAR, S.; LEAPER, D. J. Basic science of sepsis. The Medicine Publishing Company Ltd. **Surgery**, v.23, n. 8, p. 272 – 277, 2005.

KUMAR, S.; KUMAR, R.; SHARMA, S. B.; JAIN, B. K. Effect of oral glutamine administration on oxidative stress, morbidity and mortality in critically ill surgical patients. **Indian Journal of Gastroenterology**, v. 26, n. 71, p.70 – 73, 2007.

LACEY, J. M.; WILMORE, D. W. Is Glutamine conditionally essential amino acid? **Nutrition Reviews**, v. 48, n. 8, p. 287 – 309, 1990.

LEE - Laboratório de Epidemiologia e Estatística do Instituto Dante Pazzanese. Disponível em:<www.lee.dante.br>. Acesso em: 18 jul. 2010.

LEMESHOW, S.; KLAR, J.; TERES, D. Outcome prediction for individual intensive-care patients – useful, misused, or abused. **Intensive Care Medicine**, v. 21, n. 9, p. 770 – 776, 1995.

LEVY, M. M.; FINK, M. P.; MARSHALL, J. C.; ABRAHAM, E.; ANGUS, D.; COOK, D.; COHEN, J.; OPAL, S. M.; VINCENT, J. L.; RAMSAY, G. SCCM/ESICM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. **Critical Care Medicine**, v. 31, n. 4, p. 1250 – 1256, 2003.

LEVOYER, T.; CIOFFI W. G. Jr.; PRATT, L.; SHIPPEE, R.; McMANUS, W. F.; MASON Jr, A. D.; PRUITT Jr, B. A. Alterations in intestinal permeability after thermal injury. **Archives of Surgery**, v.127, n. 1, p. 26 – 29, 1992.

LI, C.; BUETTGER, C.; KWAGH, J. A signaling role of glutamine in insulin secretion. **Journal of Biological Chemistry**, v. 279, p. 13393 – 13401, 2004.

LIM, V.; KOROURIAN, S.; TODOROVA, V. K.; KAUFMANN, Y.; KLIMBERG, V. S. Glutamine prevents DMBA-induced squamous cell cancer. **Oral Oncology**, v. 45, p. 148 – 155, 2009.

LIMA, E. S.; ABDALLA, D. S. P. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 37, n. 3, 2001.

LOSSER, M. R.; DAMOISEL, C.; PAYEN, D. Glucose metabolism in acute critical situation. **Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation**, v. 28, p. e181 – e192, 2009.

LUO, M.; BAZARGAN, N.; GRIFFITH, D. P.; ESTÍVARIZ, C. F.; LEADER, L. M.; EASLEY, K. A.; DAIGNAULT, N. M.; HAO, L.; MEDDINGS, J. B.; BLUMBERG, GALLOWAY, J. R.; BLUMBERG, J. B.; JONES, D. P.; ZIEGLE, T. R. Metabolic effects of enteral versus parenteral alanyl-glutamine dipeptide administration in critically ill patients receiving enteral feeding: A pilot study. **Clinical Nutrition**, v. 27, p. 297 – 306, 2008.

LUND, P. L-Glutamine and L-Glutamate: UV-Method with Glutaminase and Glutamate Dehydrogenase. *In*: BERGMEYER, H. U. (Ed.). **Methods of Enzymatic Analysis**. Verlagsgesellschaft, Weinheim: VCH, 1986. v. 8, p 357 – 363.

MARIK, P. E.; ZALOGA, G. P. Early enteral nutrition in acutely ill patients: A systematic review. **Critical Care Medicine**, v. 29, n. 12, p. 2264 – 2270, 2001.

MARIK, P. E.; ZALOGA, G. P. Immunonutrition in critically ill patients: a systematic review and analysis of the literature. **Intensive Care Medicine**, v. 34, n. 11, p. 1980 – 1990, 2008.

MARTIN, J. B.; WHEELER, A. P. Approach to the patient with sepsis. **Clinics in Chest Medicine**, v. 30, p. 1 – 16, 2009.

MARTIN, G. S.; MANNINO, D. M.; EATON, S.; MOSS, M. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. **New England Journal of Medicine**, v. 348, n. 16, p. 1546 – 1554, 2003.

McCOWEN, K. C.; MALHOTRA, A.; BISTRIAN, B. R. Stress induced hyperglycemia. **Critical Care Clinics**, v. 17, p. 107 – 124, 2001.

MCQUIGGAN, M.; KOZAR, R.; SAILORS, R. M.; AHN, C.; MCKINLEY, B.; MOORE, F. Enteral Glutamine During Active Shock Resuscitation Is Safe and Enhances Tolerance of Enteral Feeding. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 32, n. 1, p. 28 – 35, 2008.

MEISTER, A.; ANDERSON, M. E. Glutathione. **Annual Review of Biochemistry**, v. 52, p. 711 – 760, 1983.

MONTEJO, J. C.; ZARAZAGA, A.; LOPEZ-MARTINÉZ, J.; URRÚTIA, G.; ROQUÉ, M.; BLESÁ, A. L.; CELAYA, S.; CONEJERO, R.; GALBAN, C.; GARCIA DE LORENZO, A.; GRAU, T.; MESEJO, A.; ORTIZ-LEYBA, C.; PLANAS, M.; ORDONÉZ, J.; JIMÉNEZ, F. J. Immunonutrition in the intensive care unit. A systematic review and consensus statement. **Clinical Nutrition**, v. 22, n. 3, p. 221 – 233, 2003.

MONDELLO, S.; ITALIANO, D.; GIACOBBE, M. S.; MONDELLO, P.; TRIMARCHI, G.; ALOISI, C.; BRAMANTI, P.; SPINA, E. Glutamine-supplemented total parenteral nutrition improves immunological status in anorectic patients. **Nutrition**, v. 26, n. 6, p. 677 – 681, 2010.

NEU, J.; ROIG, J. C.; MEELZE, W. H.; VEERMAN, M.; CARTER, C.; MILLSAPS, M.; BOWLING, D.; DALLAS, J. D.; SLEASMAN, J.; KNIGHT, T.; AUESTAD, N. Enteral glutamine supplementation for very low birth weight infants decreases morbidity. **Journal of Pediatrics**, v. 131, p. 691 – 699, 1997.

NEU, J.; DEMARCO, V.; LI, N. Glutamine: clinical applications and mechanisms of action. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 5, p. 69 – 75, 2002.

NEWSHOLME, E. A.; CALDER, P. C. The Proposed Role of Glutamine in Some Cells of the Immune System and Speculative Consequences for the Whole Animal. **Nutrition**, v. 13, n. 7, p. 728 – 730, 1997.

NEWSHOLME, P.; CURI, R.; CURI, T. C. P.; MURPHY, C. J.; GARCIA, C.; MELO, M. P. Glutamine metabolism by lymphocytes, macrophages, and neutrophils: Its importance in health and disease. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 10, p. 316 – 324, 1999.

NEWSHOLME, P. Why is L-glutamine metabolism important to cells of the immune system in health, post injury, surgery or infection? **Journal of Nutrition**, v. 131, p. 2515S – 2522S, 2001.

NIEBAUER, J.; VOLK, H. D.; KEMP, M.; DOMINGUEZ, M.; SCHUMANN, R. R.; RAUCHHAUS, M.; POOLE-WILSON, P. A.; COATS, A. J.; ANKER, S. D. Endotoxin and immune activation in chronic heart failure: a prospective cohort study. **Lancet**, v. 353, p. 1838 – 1842, 1999.

NOVAK, F.; HEYLAND, D. K.; AVENELL, A.; DROVER, J. W.; SU, X. Glutamine supplementation in serious illness: a systematic review of the evidence. **Critical Care Medicine**, v. 3, n. 9, p. 2022 – 2029, 2002.

O'BRIEN Jr, J. M.; ALI, N. A.; ABEREGG, S. K.; ABRAHAM, E. Sepsis. **American Journal of Medicine**, v. 120, p. 1012 – 1022, 2007.

ODA, S.; HIRASAWA, H.; SHIGA, H.; NAKANISHI, K.; MATSUDA, K.; NAKAMURA, M. Sequential measurement of IL-6 blood levels in patients with systemic inflammatory response syndrome (SIRS)/sepsis. **Citokine**, v. 29, p. 169 – 175, 2005.

OPARA, E. C. Oxidative Stress. **Disease-a-Month**, v. 52, p. 183 – 198, 2006.

OUDEMANS-VAN, S. H. N.; BOSMAN, R. J.; TRESKES, M.; VAN DER SPOEL, H.J.; ZANDSTRA, D. F. Plasma glutamine depletion and patient outcome in acute ICU admissions. **Intensive Care Medicine**, v. 27, p. 84 – 90, 2001.

PALOMAR, M.; CANTON, R.; COLMENERO, J. D.; DÍAZ, E.; MARCO, P.; OLAECHEA, P.; SÁNCHEZ, M.; VILA, J.; ZARAGOZA, R.; GUDIOL, F. Update: sepsis and septic shock. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v. 25, Suppl. 1, p. 58 – 66, 2007.

PAPE, H. C.; DWENGER, A.; REGEL, G.; AUF'M KOLCK, M.; GOLLUB, F.; WISNER, D.; STURM, J. A.; TSCHERNE, H. Increased gut permeability after multiple trauma. **British Journal of Surgery**, v. 81, n. 6, p. 850 – 852, 1994.

PASTORE, A.; FEDERICI, G.; BERTINI, E.; PIEMONTE, F. Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification. **Clinica Chimica Acta**, v. 333, n. 1, p. 19 – 39, 2003.

PEREIRA JÚNIOR, G. A.; MARSON, F.; ABELD, M.; OSTINI, F. M.; SOUZA, S. H.; BASILE-FILHO, A. Fisiopatologia da Sepse e suas Implicações Terapêuticas. **Medicina**, Ribeirão Preto, v. 1, p. 349 – 362, 1998.

PERRICONE, C.; CAROLIS, C.; PERRICONE, R. Glutathione: A key player in autoimmunity. **Autoimmunity Reviews**, v. 8, p. 697 – 701, 2009.

PLANK, L. D.; HILL, G. L. Sequential Metabolic Changes following Induction of Systemic Inflammatory Response in Patients with Severe Sepsis or Major Blunt Trauma. **World Journal of Surgery**, v. 24, p. 630 – 638, 2000.

POEZE, M.; LUIKING, Y. C.; BREEDVELD, P.; MANDERS, S.; DEUTZ, N. E. P. Decreased plasma glutamate in early phases of septic shock with acute liver dysfunction is an independent predictor of survival. **Clinical Nutrition**, v. 27, p. 523 – 530, 2008.

PREISER, J. C.; DEVOS, P. Contrôle glycémique et états septiques. **Réanimation**, v. 17, p. 192 – 196, 2008.

PRIETO, M. F.; KILSTEIN, J.; BAGILET, D.; PEZZOTTO, S. M. Proteína C reactiva como factor pronóstico de mortalidad en la unidad de cuidados intensivos. **Medicine Intensiva**, v. 32, n. 9, p. 424 – 430, 2008.

RHOADS, J. M.; ARGENZIO, R. A.; CHEN, W.; GRAVES, L. M.; LICATO, L. L.; LIKSLAGER, A. T.; et al. Glutamine metabolism stimulates intestinal cell MAPKs by a cAMP-inhibitable raf-independent mechanism. **Gastroenterology**, v. 118, p. 90 – 100, 2000.

RHOADS, J. M.; ARGENZIO, R. A.; CHEN, W.; WESTWICK, J. K.; COX, D.; BERSCHNEIDER, H. M.; BRENNER, D. A. L-glutamine stimulates intestinal cell proliferation and activates mitogenactivated protein kinases. **American Journal of Physiology and Gastrointestinal Liver Physiology**, v. 272, n. 5, p. G943 – G953, 1997.

ROCHETTE, L. Stress oxydant et sepsis. **Réanimation**, v. 3, p. 1 – 4, 2008.

RODRICK, M. L.; MOSS, N. M.; GRBIC, J. T.; REVHAUG, A.; O'DWYER, S. T.; MICHIE, H. R.; et al. Effects of in vivo endotoxin infusions on in vitro cellular immune responses in humans. **Journal of Clinical Immunology**, v. 12, n. 6, p. 440 – 450, 1992.

ROTH, E. Immune and cell modulation by amino acids. **Clinical Nutrition**, v. 26, p. 535 – 544, 2007.

ROTH, E. Nonnutritive Effects of Glutamine. **Journal of Nutrition**, v. 138, p. 2025S – 2031S, 2008.

ROTSTEIN, O. D. Endocrine and Metabolic Dysfunction Syndromes in the Critically Ill. **Critical Care Clinics**, v. 17, n. 1, p. 1 – 13, 2001.

SALES JÚNIOR, J. A. L.; DAVID, C. M.; HATUM, R.; SOUZA, P. C. S. P.; JAPIASSÚ, A.; PINHEIRO, C. T. S.; FRIEDMAN, G. *et al.* Sepsis Brasil: Estudo Epidemiológico da Sepsis em Unidades de Terapia Intensiva Brasileiras. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 18, n. 1, p. 9 – 17, 2006.

SALLES, M. J. C.; SPROVIERI, S. R. S.; BEDRICOW, R.; PERERIRA, A. C.; CARDENUTO, S. L.; SILVA, T. M.; GOLIN, V. Síndrome da resposta inflamatória sistêmica/sepsis – revisão e estudo da terminologia e fisiopatologia. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 45, n. 1, p. 86 – 92, 1999.

SÁNCHEZ, R. P.; J. SANZ, M.; MARTÍN, A. P.; MARTÍN, E. R.; SOTO, M. Á. M.; GARCÍA, Y. M. S. Balance entre citocinas pro y antiinflamatorias en estados sépticos. **Medicine Intensiva**, v. 29, n. 3, p. 151 – 8, 2005.

SCHULMAN, A. S.; WILLCUTTS, K. F.; CLARIDGE, EVANS, H. L.; RADIGAN, A. E.; O'DONNELL, K. B.; CAMDEN, J. R.; CHONG, T. W.; MCELEARNEY, S. T.; SMITH, R. L.; GAZONI, L. M.; FARINHOLT, H-M. A., HEUSER, C. C.; LOWSON, S. M.; SCHIRMER, B. D.; YOUNG, J. S.; SAWYER, R. G. Does the addition of glutamine to enteral feeds affect patient mortality? **Critical Care Medicine**, v. 33, p. 2501 – 2506, 2005.

SCHULZE, E.; BOSSHARD, E. Ueber das Glutamin. **Ber. Dtsch. Chem. Ges.**, v. 45, p. 312 – 315, 1883.

SCHLOERB, P. R. Immune-enhancing diets: products, components, and their rationales. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 25, p. 3 – 7, 2001.

SEDMAN, P. C.; MACFIE, J.; SAGAR, P.; MITCHELL, C. J.; MAY, J.; MANCEY-JONES, B.; JOHNSTONE, D. The prevalence of gut translocation in humans. **Gastroenterology**, v. 107, p. 643 – 649, 1994.

SENKAL, M.; HAAKER, R.; DESKA, T.; HUMMEL, T.; STEINFORT, C.; ZUMTOBEL, V.; ALTEHELD, B.; STEHLE, P. Early enteral gut feeding with conditionally indispensable pharmac nutrients in metabolically safe and is well tolerated in postoperative cancer patients – a pilot study. **Clinical Nutrition**, v. 23, p. 1193 – 1198, 2004.

SIES, H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. **Experimental Physiology**, v. 82, n. 2, p. 291 – 295, 1997.

SINGER, P.; SMADJA, P. Diètes immuno-enrichies en protéines. **Nutrition Clinique et Métabolisme**, v. 24, p. 45 – 51, 2010.

SINGLETON, K. D.; BECKEY, V. E.; WISCHMEYER, P. E. Glutamine prevents activation of NF-kappaB and stress kinase pathways, attenuates inflammatory cytokine release and prevents acute respiratory distress syndrom (ARDS) following sepsis. **Shock**, v. 24, p. 583 – 589, 2005.

SIMPSON, F.; DOIG, G. S. Parenteral vs. enteral nutrition in the critically ill patient: a meta-analysis of trials using the intention to treat principle. **Intensive Care Medicine**, v. 31, p.12 – 23, 2005.

SPRUNG, C. L.; SAKR, Y.; VINCENT, J. L.; LE GALL, J. R.; REINHART, K.; RANIERI, V. M.; GERLACH, H.; FIELDEN, J.; GROBA, C. B.; PAYEN, D. An evaluation of systemic inflammatory response syndrome signs in the Sepsis Occurrence in Acutely ill Patients (SOAP) study. **Intensive Care Medicine**, v. 32, n. 3, p. 421 – 7, 2006.

TAKESHI, M.; KAZUFUMI, O.; ICHIROU, K.; MASAMICHI, H.; YOSHIHIRO, K.; HISAO, O. Possible role of increased oxidant stress in multiple organ failure after systemic inflammatory response syndrome. **Critical Care Medicine**, v. 31, n. 4, p. 1048 – 1052, 2003.

TEIXEIRA, A. C. C.; CARUSO, L.; SORIANO, F. G. Terapia Nutricional Enteral em Unidade de Terapia Intensiva: Infusão *Versus* Necessidades. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 18, n. 4, p. 331 – 337, 2006.

THIERFELDER, H.; SHERWIN, C.P. Phenylacetylglutamin, ein Stoffwechsel-Produkt des menschlichen Körpers nach Eingabe von Phenyl-Essigäure. **Ber. Dtsch. Chem. Ges.**, v. 47, p. 2630 – 2634, 1914.

TIETZ, N. W. **Clinical guide on clinical laboratory tests**. 4th ed. Washington, DC: AACC Press, 1991.

TRINDER, P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. **Annals of Clinical Biochemistry**, v. 6, p. 24 – 7, 1969.

VALENCIA, E.; MARIN, A.; HARDY, G. Impact of Oral L-Glutamine on Glutathione, Glutamine, and Glutamate Blood Levels in Volunteers. **Nutrition**, v. 18, p. 367 – 370, 2002.

VAN DEN BERGHE, G.; WOUTERS, P.; WEEKERS, F.; VERWAEST, C.; BRUYNINCKX, F.; SCHETZ, M. *et al.* Intensive insulin therapy in critically ill patients. **New England Journal of Medicine**, v. 345, n. 19, p. 1359 – 1367, 2001.

VAN DEN BERGHE, G.; WILMER, A.; HERMANS, G.; MEERSSEMAN, W.; WOUTERS, P. J.; MILANTS, I.; WIJNGAERDEN, E. V.; BOBBAERS, H.; BOUINLLON, R. Intensive insulin therapy in the medical ICU. **New England Journal of Medicine**, v. 354, n. 5, p. 449 – 461, 2006.

VAN DER HULST, R. R. W. J.; DEUTZ, N. E. P.; VON MEYENFELDT, M. F.; ELBERS, J. M. H.; STOCKBRUGGER, R. W.; SOETERS, P. B. Decrease of mucosal glutamine concentration in the nutritionally depleted patient. **Clinical Nutrition**, v. 13, p. 228 – 233, 1994.

VICTOR, V. M.; ROCHA, M.; DE LA FUENTE, M. Immune cells: free radicals and antioxidants in sepsis. **International Immunopharmacology**, v. 4, p. 327 – 347, 2004.

VILA, B. G.; GRAU, T. La nutrición enteral precoz en el enfermo grave. **Nutrición Hospitalaria**, v. 20, n. 2, p. 93 – 100, 2005.

VINCENT, J. L.; KORKUT, H. A. Defining Sepsis. **Clinical Chest Medicine**, v. 29, p. 585 – 590, 2008.

VREES, M. D.; ALBINA, J. E. Metabolic response to illness and its mediators. *In*: ROMBEAU, J. L.; ROLANDELLI, R. H. (Ed.). **Clinical Nutrition: Parenteral Nutrition**. Philadelphia: WS saunders, 2000. p. 21 – 34.

WAITZBERG, D. L. **Nutrição Oral, Enteral e Parenteral na Prática Clínica**. 4. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2009.

WERNERMAN, J. Clinical Use of Glutamine Supplementation. **Journal of Nutrition**, v. 138, p. 2040S – 2044S, 2008.

WIEST, R.; RATH, H. C. Bacterial translocation in the gut. **Best Practice and Research Clinical Gastroenterology**, v. 17, n. 3, p. 397 – 425, 2003.

WILMORE, D. W.; SHABERT, J. K. Role of Glutamine in Immunologic Responses. **Nutrition**, v. 14, p. 618 – 626, 1998.

WINDLE, E. M. Glutamine supplementation in critical illness: Evidence, recommendations, and implications for clinical practice in burn care. **Journal of Burn Care and Research**, v. 27, p. 764 – 772, 2006.

WISCHMEYER, P. E. Glutamine: Mode of action in critical illness. **Critical Care Medicine**, v. 35, Suppl. 1, p. S541 – S544, 2007.

YAGI, K. Simple assay for the level of total lipid peroxides in serum or plasma. **Methods in Molecular Biology**, v. 108, p. 101 – 106, 1998.

ZAZZO, J. F. Oxidative stress during acute inflammatory and critical states: implications for clinical practice. **Nutrition Clinique et Métabolisme**, v. 16, p. 268 – 274, 2002.

ZHI-MING, J.; JIANG, H.; FÜRST, P. The impact of glutamine dipeptides on outcome of surgical patients: systematic review of randomized controlled trials from Europe and Asia. **Clinical Nutrition Supplements**, v. 1, p. 17 – 23, 2004.

ZIEGLER, T. R.; BENFELL, K.; SMITH R. J.; YOUNG, L. S.; BROWN, E.; FERRARI-BAALIVIERA, E.; LOWE, D. K.; WILMORE, D. W. Safety and Metabolic Effects of L-Glutamine Administration in Humans. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 14, n. 4, p. 137S – 146S, 1990.

ZIEGLER, T. R.; SMITH, R. J.; BYRNE, T. A.; WILMORE, D. W. Potential role of glutamine supplementation in nutrition. Support. **Clinical Nutrition**, v. 12, Suppl. 1, p. 582 – 890, 1993.

ZIEGLER, T. R.; OGDEN, L. G.; SINGLETON, K. D.; LUO, M.; FERNANDEZ-ESTIVARIZ, C.; GRIFFITH, D. P.; GALLOWAY, J. R.; WISCHMEYER, P. E. Parenteral glutamine increases serum heat shock protein 70 in critically ill patients. **Intensive Care Medicine**, v. 31, p. 1079 – 1086, 2005.

APENDICES

**APÊNDICE A - CARTA DE ANUÊNCIA DA DIREÇÃO TÉCNICO-CIENTÍFICA DA
CASA DE SAÚDE E MATERNIDADE SÃO RAIMUNDO**

A

Casa de Saúde e Maternidade São Raimundo
Direção Científica
Dr. Fernando Medeiros

Fortaleza, 11 de Março de 2008

SOLICITAÇÃO DE ANUÊNCIA

Prezado Senhor,

Cumprimentando V. Sa. vimos muito respeitosamente, por meio desta, solicitar vossa anuência para a realização do trabalho de pesquisa, em nível de doutorado, intitulado *“EFEITO DA L-GLUTAMINA EM DOSES NUTRACÊUTICAS SOBRE O ESTRESSE OXIDATIVO, A INFLAMAÇÃO E O METABOLISMO GLICOLÍTICO DE PACIENTES COM SÍNDROME DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA SISTÊMICA”* do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia da Universidade Federal do Ceará.

Informamos que a coleta de dados será realizada com pacientes da Unidade de Terapia Intensiva, não demandará custos para a instituição e, na medida do possível, não interferirá na operacionalização e/ou nas atividades cotidianas da mesma.

Esclarecemos que tal autorização é uma pré-condição biotética para execução de qualquer estudo envolvendo seres humanos, sob qualquer forma ou dimensão, em consonância com a resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde.



Este estudo foi previamente submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Walter Cantídio da Universidade Federal do Ceará, Protocolo nº 055.06.02, baseando-se nas normas que regulamentam a pesquisa em seres humanos do Conselho Nacional de Saúde (Resoluções CNS 196/96, 251/97, 292/99, 303/00, 304/00, 347/05, 346/05).

Antecipamos nossos agradecimentos pelo vosso valoroso apoio, certos de que vossa colaboração contribuirá para o desenvolvimento da pesquisa científica em vossa instituição.

Atenciosamente subscrevemo-nos



Prof. Dr. Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos
Orientador



Ana Augusta Monteiro Cavalcante
Doutoranda

De acordo:

Fortaleza (CE) 17/3/08



Dr. Fernando Medeiros

Contatos:**Orientador:****Prof. Dr. Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos****Universidade Federal do Ceará****Faculdade de Medicina / Departamento de Cirurgia****Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia****Fortaleza - CE****Telefone: (85) 3366 8063****Pesquisadora:****Ana Augusta Monteiro Cavalcante****Rua Ministro Eduardo Ellery Barreira, 29 C Apto. 402****Água Fria****Fortaleza - CE****Telefone: (85) 3241 0019****(85) 9951 8070**

APENDICE B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE CIRURGIA**

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
Médico Assistente**

1. Título do estudo

“Efeito da l-glutamina em doses nutracêuticas sobre o estresse oxidativo, a inflamação e o metabolismo glicolítico de pacientes portadores da Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica”.

2. Objetivo do estudo

Identificar o efeito da glutamina em doses nutracêuticas sobre o estresse oxidativo, a inflamação e o metabolismo glicolítico em pacientes graves, analisando detalhadamente os fatores contribuintes para as mudanças positivas, sobretudo nas conseqüências para a saúde atual e futura, bem como na prevenção das taxas de morbimortalidade destes pacientes.

3. Local de execução

Este estudo será realizado na Unidade de Terapia Intensiva da Casa de Saúde e Maternidade São Raimundo onde, pelo contato prévio com médicos, pacientes/ familiares ou responsáveis do paciente, estes serão informados quanto aos objetivos e a forma de execução deste estudo e, portanto, convidados a participar do trabalho. Após assinatura deste termo de consentimento, a coleta de dados se constituirá de avaliação por meio de exames bioquímicos e aplicação de questionário.

4. Nome e números de telefones dos investigadores

Prof. Dr. Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos

Programa de Pós-Graduação em Cirurgia / UFC (85) 3366-8063 (Orientador)

Ana Augusta Monteiro Cavalcante

Residência (85) 3241-0019 (Doutoranda)

5. Critérios de inclusão e exclusão dos indivíduos

Inclusão

- Pacientes portadores de SRIS - Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica, hemodinamicamente estáveis, sem uso de drogas vasopressoras;
- Pacientes requerendo terapia nutricional enteral;
- Pacientes adultos e idosos;
- Pacientes com Apache II $> 10 < 20$
- Concordância por meio da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido do médico e familiares/responsáveis pelo paciente para o mesmo ser incluído neste estudo, podendo retirar-se a qualquer momento, sem qualquer prejuízo.

Exclusão

- Pacientes em uso de drogas vasopressoras;
- Pacientes com choque séptico;
- Pacientes com Diabetes Mellitus;
- Pacientes com insuficiência renal aguda e crônica;
- Pacientes cardiopáticos;
- Pacientes com insuficiência hepática.

6. Descrição do estudo

Trata-se de um estudo clínico randomizado controlado onde será identificado o efeito da glutamina em doses nutracêuticas (30 gramas/dia) sobre o estresse oxidativo que influencia as mudanças no metabolismo glicolítico durante 24 horas, analisando detalhadamente os fatores contribuintes para as mudanças positivas, sobretudo nas conseqüências para a saúde atual e futura, bem como na prevenção das taxas de morbimortalidade, em pacientes assistidos na Unidade de Terapia Intensiva da Casa de Saúde e Maternidade São Raimundo.

As avaliações clínicas e laboratoriais serão realizadas quatro vezes, durante quatro dias. Serão preenchidas fichas de identificação para cada paciente incluído, onde serão coletados os dados sobre a doença de base, infecções diagnosticadas e uso de suporte nutricional enteral e parenteral.

7. Benefícios para os indivíduos

Este estudo tem o objetivo de identificar o efeito da glutamina sobre o estresse oxidativo, a inflamação e o metabolismo glicolítico de pacientes internados em Unidades de Terapia Intensiva.

8. Riscos para os indivíduos

Não há qualquer tipo de risco para os envolvidos no desenvolvimento do trabalho.

9. Alternativas para o estudo

Não há alternativas para este estudo em questão.

10. Direito dos indivíduos de recusar-se a participar ou retirar-se do estudo

A participação no estudo é voluntária e, ao paciente, confere-se o direito para recusar-se a participar ou retirar-se do estudo a qualquer momento, por meio de seu representante, sem qualquer prejuízo ou justificativa.

11. Direitos dos indivíduos quanto à privacidade

Os resultados da pesquisa serão analisados e aos envolvidos será assegurada a privacidade.

12. Publicação das informações

Os dados obtidos estarão disponíveis para a equipe envolvida no trabalho. Na publicação destes dados serão mantidos os direitos assegurados nos itens 10 e 11.

13. Informação financeira

Os indivíduos que comporão os grupos experimentais serão voluntários sem contrato de trabalho e sem remuneração.

14. Assinaturas

Fortaleza, _____ de _____ de 200__.

Prof. Dr. Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos

Ana Augusta Monteiro Cavalcante

15. Consentimento

Finalmente, tendo eu compreendido perfeitamente tudo o que me foi informado sobre a participação do meu paciente no mencionado estudo e estando consciente dos seus direitos, responsabilidades, riscos e benefícios que a sua participação implicam, concordo e para isso eu **DOU O MEU CONSENTIMENTO SEM QUE PARA ISSO EU TENHA SIDO FORÇADO OU OBRIGADO.**

Nome: _____

(letras de fôrma)

Assinatura: _____ Data: ____/____/____

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE CIRURGIA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
Familiares ou Responsáveis pelo paciente

1. Título do estudo

“Efeito da l-glutamina em doses nutracêuticas sobre o estresse oxidativo, a inflamação e o metabolismo glicolítico de pacientes portadores da Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica”.

2. Objetivo do estudo

Identificar o efeito da glutamina em doses nutracêuticas sobre o estresse oxidativo, a inflamação e o metabolismo glicolítico em pacientes graves, analisando detalhadamente os fatores contribuintes para as mudanças positivas, sobretudo nas conseqüências para a saúde atual e futura, bem como na prevenção das taxas de morbimortalidade destes pacientes.

3. Local de execução

Este estudo será realizado na Unidade de Terapia Intensiva da Casa de Saúde e Maternidade São Raimundo onde pelo contato prévio com o médico assistente, paciente/familiares ou responsáveis, estes serão informados quanto aos objetivos e a forma de execução deste estudo e, portanto, convidados a participar do trabalho. Após assinatura deste termo de consentimento, a coleta de dados se constituirá de avaliação por meio de exames bioquímicos e aplicação de questionário.

4. Nome e números de telefones dos pesquisadores

Prof. Dr. Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos - Programa de Pós-Graduação em Cirurgia / UFC (0xx85) 3366-8063 (Orientador)

Ana Augusta Monteiro Cavalcante - Residência (0xx85) 3241-0019 (Doutoranda)

5. Informações ao Paciente

- Você está convidado a participar de um projeto de pesquisa.
- Você foi escolhido como um candidato para este projeto porque não apresenta nenhuma doença que possa interferir no resultado do estudo e encontra-se numa faixa etária indicada para avaliação.

- A proteína que lhe será oferecida não lhe causará nenhum mal, pelo contrário, poderá contribuir para melhorar a sua resposta à doença, e é importante conhecer seu efeito para que outros pacientes também possam se beneficiar. A glutamina é um aminoácido (um pequeno pedaço de uma proteína) e apresenta funções importantes em pacientes com infecções ou ferimentos. Não há nenhum relato de problemas com relação a sua administração por Nutrição Enteral (nutrição por sonda).
- Durante o estudo serão retiradas 4 (quatro) amostras de sangue, para análises laboratoriais: IL-6 e TNFalfa, TBARS, glicose, insulina, PCR, glutatona e lactato. Estas retiradas de amostras de sangue serão realizadas durante quatro dias, sendo a primeira coleta as 7:00 h do D1, a segunda as 7:00 h do D3, a terceira as 7:00 h do D4 e a última as 7:00 h, no D6.
- A sua participação é importante, por isso, lhe será explicado, mais detalhadamente pelo pesquisador, o objetivo da pesquisa, e como ela será executada.
- O seu Médico Assistente também está informado sobre todo o estudo.
- Você deve entender os riscos e o benefício da sua participação neste estudo e concordar por escrito em participar dele.
- A sua participação é importante, caso você decida se irá participar, poderá dar seu consentimento por escrito.
- Caso queira desistir poderá fazê-lo, mesmo após iniciar o estudo.

6. Assinaturas

Fortaleza, _____ de _____ de 200____.

Prof. Dr. Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos

Ana Augusta Monteiro Cavalcante

7. Consentimento Livre e Esclarecido

Finalmente, tendo eu compreendido perfeitamente tudo o que me foi informado sobre a participação do meu familiar no mencionado estudo e estando consciente dos seus direitos, responsabilidades, riscos e benefícios que a sua participação implicam, concordo e para isso eu **DOU O MEU CONSENTIMENTO SEM QUE PARA ISSO EU TENHA SIDO FORÇADO OU OBRIGADO.**

Nome: _____

(letras de fôrma)

Assinatura: _____ **Data:** ____/____/____

APENDICE C - FICHA DE IDENTIFICAÇÃO

IDENTIFICAÇÃO DO PACIENTE

Data da primeira intervenção: ____/____/____

Data da segunda intervenção: ____/____/____

Nome: _____ Nome do Médico: _____

Data de nascimento: ____/____/____ Sexo: _____ Telefone: _____

Endereço:

Qual o diagnóstico? _____

Apache II? _____

ASPECTO CLÍNICO-NUTRICIONAL

1) Doença de base?

2) O paciente se submeteu a processo cirúrgico?

Sim () Não ()

Se sim. Especifique:

3) Infecções diagnosticadas:

4) Alimentação recebida:

() suporte enteral ()

() suporte parenteral ()

() alimentação via oral ()

5) Morbidade referida dos últimos 5 dias:

Diarréia () Febre () Vômitos () Hipotermia () Convulsão () Infecções cutâneas

() Infecções do ouvido, olhos ou garganta () Pneumonia () Bronquite ()

Acidentes externos () Processos inflamatórios () Choque () SRIS () Outras ()

Especificar:

6) Exames laboratoriais realizados antes da intervenção e os resultados:

Tipo	Resultado

Data: ___/___/___ Dia da semana: _____ Identificação da ficha: _____

APENDICE D - DADOS BRUTOS

Pacientes, volume de dieta prescrito, volume de dieta ingerido, kcal/ml prescritas, kcal/ml ingeridas e diagnóstico SRIS

Pacientes do Estudo	Volume Prescrito (ml)	Volume Ingerido (ml)	Kcal/ml Prescritas	Kcal/ml Ingeridas	Leucócitos	FC	Temp
1	900	750	1188	990	SIM	NÃO	SIM
2	1000	900	1320	1188	NÃO	SIM	SIM
3	1000	940	1320	12418	SIM	SIM	NÃO
4	1200	1000	1584	1320	SIM	SIM	SIM
5	900	760	1188	1003	SIM	SIM	SIM
6	1200	1120	1584	1478	NÃO	SIM	SIM
7	1200	1000	1584	1320	SIM	SIM	SIM
8	900	750	1188	990	NÃO	SIM	SIM
9	1200	1200	1584	1584	SIM	NÃO	SIM
10	1200	1200	1584	1584	SIM	SIM	NÃO
11	1200	1200	1584	1584	SIM	SIM	NÃO
12	1200	1200	1584	1584	SIM	SIM	NÃO
13	1200	1200	1584	1584	SIM	SIM	NÃO
14	1200	1200	1584	1584	SIM	NÃO	SIM
15	900	750	1188	990	NÃO	SIM	SIM
16	900	900	1188	1188	SIM	SIM	NÃO
17	1500	1360	2376	1795	SIM	NÃO	SIM
18	1500	1450	2376	1914	SIM	NÃO	SIM
19	600	600	792	792	SIM	SIM	SIM
20	1200	1200	1584	1584	SIM	SIM	NÃO
21	1200	1200	1584	1584	SIM	SIM	NÃO
22	900	900	1188	1188	SIM	NÃO	SIM
23	1200	1120	1584	1478	SIM	SIM	NÃO
24	1200	1200	1584	1584	SIM	NÃO	SIM
25	1200	1200	1584	1584	NÃO	SIM	SIM
26	1200	1100	1584	1452	SIM	SIM	NÃO
27	1200	1000	1584	1320	SIM	SIM	NÃO
28	1200	1200	1584	1584	SIM	NÃO	SIM
29	1200	1200	1584	1584	SIM	NÃO	SIM
30	1200	850	1584	1122	SIM	SIM	NÃO

GRUPOS DE PACIENTES, APACHE II CALCULADO E SUPLEMENTOS UTILIZADOS		
Grupo	Apache II	Suplemento
1	13	AA-BB
1	11	AA-BB
1	12	AA-BB
1	15	AA-BB
1	11	AA-BB
1	15	AA-BB
1	11	AA-BB
2	10	BB-AA
2	11	BB-AA
2	12	BB-AA
2	11	BB-AA
2	12	BB-AA
2	14	BB-AA
2	12	BB-AA
2	12	BB-AA
1	11	AA-BB
2	11	BB-AA
2	13	BB-AA
2	13	BB-AA
1	17	AA-BB
1	18	AA-BB
2	11	BB-AA
1	15	AA-BB
1	19	AA-BB
1	18	AA-BB
2	13	BB-AA
1	11	AA-BB
2	14	BB-AA
2	13	BB-AA
1	15	AA-BB

GLICOSE						
IDENTIFICAÇÃO			GLUTAMINA		CASEINATO	
Pacientes	Idade	Sexo	T0	T1	T0	T1
1	92	1	146,00	175,00	151,00	126,00
2	75	2	122,00	113,00	136,00	138,00
3	81	1	151,00	186,00	127,00	219,00
4	68	1	180,00	144,00	122,00	140,00
5	82	2	252,00	234,00	141,00	102,00
6	75	2	108,00	99,00	80,00	88,00
7	72	2	214,00	133,00	143,00	108,00
8	92	2	125,50	108,00	156,00	176,00
9	30	1	147,00	169,00	166,00	193,00
10	74	1	115,00	131,00	104,00	128,00
11	76	2	132,00	145,00	91,00	122,00
12	70	2	92,00	101,00	84,00	77,00
13	81	2	136,00	111,00	129,80	128,00
14	83	1	128,00	80,00	245,00	115,00
15	58	1	166,00	90,80	166,50	129,00
16	63	1	90,80	110,00	126,00	88,00
17	64	2	137,00	113,00	141,00	120,00
18	87	1	115,00	101,00	66,00	122,00
19	53	2	141,00	145,00	163,00	143,00
20	84	1	166,00	137,00	162,00	179,00
21	87	1	136,00	154,00	177,00	149,00
22	84	1	104,00	107,00	95,00	108,00
23	72	2	103,00	108,00	122,00	109,00
24	78	2	108,70	70,00	81,00	124,40
25	68	1	98,00	100,00	120,00	101,00
26	80	1	113,00	128,00	135,00	115,00
27	81	2	206,00	194,00	84,00	129,00
28	76	2	148,00	133,00	118,00	73,00
29	62	1	144,00	114,00	128,00	132,00
30	85	1	100,00	121,00	148,00	103,00

CREATININA						
IDENTIFICAÇÃO			GLUTAMINA		CASEINATO	
Pacientes	Idade	Sexo	T0	T1	T0	T1
1	92	1	1,20	1,50	1,70	1,50
2	75	2	0,60	0,50	0,50	0,50
3	81	1	1,20	1,20	1,00	1,20
4	68	1	1,10	1,00	1,00	1,00
5	82	2	0,70	1,20	0,70	0,60
6	75	2	0,90	0,80	0,60	0,70
7	72	2	0,90	1,00	0,90	1,00
8	92	2	0,80	0,90	0,90	0,80
9	30	1	0,60	0,60	0,60	0,70
10	74	1	1,10	1,10	1,10	0,70
11	76	2	1,00	0,80	0,70	1,00
12	70	2	0,50	0,50	1,00	0,90
13	81	2	0,80	0,60	0,60	0,80
14	83	1	1,30	1,40	1,50	1,60
15	58	1	1,00	0,90	1,10	1,20
16	63	1	0,80	0,60	0,60	0,60
17	64	2	0,80	0,50	0,70	0,60
18	87	1	0,80	0,60	1,00	1,00
19	53	2	0,60	0,90	0,80	0,60
20	84	1	2,30	2,40	2,50	2,70
21	87	1	1,40	1,70	1,50	1,30
22	84	1	1,20	1,00	1,10	0,90
23	72	2	0,80	1,20	1,10	1,40
24	78	2	1,90	1,40	2,00	1,40
25	68	1	1,60	2,00	1,60	1,40
26	80	1	0,80	0,50	0,60	0,60
27	81	2	0,90	0,80	0,70	0,80
28	76	2	0,80	0,70	1,00	0,50
29	62	1	0,90	0,90	0,90	0,70
30	85	1	0,70	0,50	0,50	0,50

UREIA						
IDENTIFICAÇÃO			GLUTAMINA		CASEINATO	
Pacientes	Idade	Sexo	T0	T1	T0	T1
1	92	1	81,00	98,00	85,00	66,00
2	75	2	30,00	33,00	33,00	26,00
3	81	1	75,00	118,00	119,00	115,00
4	68	1	72,00	65,00	72,00	91,00
5	82	2	15,00	56,00	48,00	29,00
6	75	2	23,00	50,00	35,00	33,00
7	72	2	17,00	36,00	54,00	49,00
8	92	2	36,00	38,00	28,00	36,00
9	30	1	20,00	18,00	30,00	15,00
10	74	1	40,00	58,00	48,00	24,00
11	76	2	48,00	43,00	28,00	34,00
12	70	2	48,00	44,00	44,00	33,00
13	81	2	30,00	28,00	27,00	35,00
14	83	1	78,00	90,00	88,00	92,00
15	58	1	40,00	43,00	34,00	58,00
16	63	1	90,00	70,00	68,00	63,00
17	64	2	52,00	37,00	33,00	48,00
18	87	1	58,00	36,00	32,00	36,00
19	53	2	39,00	50,00	24,00	39,00
20	84	1	63,00	106,00	117,00	91,00
21	87	1	111,00	90,00	82,00	78,00
22	84	1	58,00	66,00	70,00	59,00
23	72	2	48,00	98,00	144,00	103,00
24	78	2	52,00	68,00	139,00	52,00
25	68	1	137,00	180,00	130,00	82,00
26	80	1	26,00	22,00	23,00	18,00
27	81	2	23,00	45,00	29,00	33,00
28	76	2	42,00	36,00	40,00	46,00
29	62	1	59,00	57,00	61,00	61,00
30	85	1	69,00	46,00	46,00	32,00

HEMATOCRITO						
IDENTIFICAÇÃO			GLUTAMINA		CASEINATO	
Pacientes	Idade	Sexo	T0	T1	T0	T1
2	75	2	29,50	25,70	26,60	32,20
4	68	1	31,00	30,80	29,90	30,90
5	82	2	33,30	28,50	27,80	30,60
6	75	2	26,00	25,20	26,90	27,20
7	72	2	35,40	27,60	30,80	26,40
8	92	2	30,50	30,30	29,80	30,20
9	30	1	32,90	29,20	23,80	29,30
10	74	1	37,20	31,80	41,40	34,00
11	76	2	27,00	27,70	33,10	31,10
12	70	2	27,20	27,80	32,40	32,30
13	81	2	25,60	27,60	26,70	23,20
14	83	1	24,60	22,40	30,40	28,50
15	58	1	43,20	41,20	40,40	38,00
16	63	1	31,50	31,40	32,80	33,00
17	64	2	23,80	24,80	29,30	26,30
18	87	1	27,50	27,00	27,70	23,90
19	53	2	31,10	29,50	28,90	34,90
20	84	1	30,60	29,50	27,10	26,30
21	87	1	32,30	28,10	31,60	30,40
22	84	1	32,80	30,40	24,00	29,70
23	72	2	33,50	25,20	34,90	37,70
24	78	2	27,20	27,20	25,00	25,00
25	68	1	22,70	26,20	24,70	23,30
26	80	1	34,80	32,60	35,50	38,00
27	81	2	33,40	29,80	30,80	29,00
28	76	2	24,00	25,90	27,00	25,90
29	62	1	26,90	28,30	29,40	29,60
30	85	1	33,30	29,00	32,60	34,90

INSULINA						
IDENTIFICAÇÃO			GLUTAMINA		CASEINATO	
Pacientes	Idade	Sexo	T0	T1	T0	T1
1	92	1	6,63	9,48	10,60	3,38
2	75	2	5,16	10,60	14,00	9,40
3	81	1	9,33	5,46	10,79	12,93
4	68	1	14,80	16,60	20,00	23,50
5	82	2	23,85	21,00	20,11	19,90
6	75	2	5,10	22,20	4,80	2,70
7	72	2	16,30	11,16	9,52	3,54
8	92	2	6,27	1,10	10,94	15,34
9	30	1	1,17	15,45	11,47	3,24
10	74	1	8,70	13,90	3,51	15,80
11	76	2	9,56	19,51	2,58	58,17
12	70	2	1,52	1,93	2,61	0,61
13	81	2	10,50	2,99	35,53	71,16
14	83	1	4,46	7,47	1,12	10,58
15	58	1	7,13	5,82	6,06	6,18
16	63	1	5,70	2,60	2,44	1,61
17	64	2	1,49	3,90	13,85	3,63
18	87	1	2,51	2,41	0,59	4,98
19	53	2	2,50	3,56	2,03	2,96
20	84	1	5,91	4,28	8,47	5,49
21	87	1	9,60	12,10	19,20	13,30
22	84	1	0,20	0,80	18,30	5,60
23	72	2	10,40	0,30	3,90	0,90
24	78	2	2,70	0,80	0,40	4,60
25	68	1	4,40	0,50	25,00	20,00
26	80	1	1,70	4,50	6,30	4,70
27	81	2	67,30	38,00	1,30	0,20
28	76	2	6,90	2,80	3,40	0,20
29	62	1	9,50	6,30	7,41	7,70
30	85	1	2,10	13,40	3,60	2,90

LACTATO						
IDENTIFICAÇÃO			GLUTAMINA		CASEINATO	
Pacientes	Idade	Sexo	T0	T1	T0	T1
1	92	1	1,16	1,75	1,21	1,15
2	75	2	1,13	1,10	1,80	1,28
3	81	1	1,58	2,05	1,47	2,00
4	68	1	1,26	1,18	1,83	1,77
5	82	2	1,66	1,11	1,28	1,09
6	75	2	1,00	1,22	1,25	1,18
7	72	2	1,27	2,47	2,08	1,69
8	92	2	1,12	3,17	1,77	1,68
9	30	1	2,23	2,12	1,53	1,68
10	74	1	1,21	1,89	1,16	1,19
11	76	2	1,17	1,33	1,08	1,19
12	70	2	1,20	1,13	1,30	1,11
13	81	2	1,30	1,55	1,47	1,36
14	83	1	1,66	1,11	1,37	1,39
15	58	1	1,38	1,27	1,44	1,40
16	63	1	1,20	1,21	1,49	1,22
17	64	2	1,18	1,10	1,25	1,13
18	87	1	1,66	1,74	1,93	1,68
19	53	2	1,41	2,00	1,88	2,01
20	84	1	1,17	1,28	1,23	1,91
21	87	1	1,33	1,20	1,28	1,19
22	84	1	1,13	1,08	1,11	1,21
23	72	2	1,42	1,23	1,28	1,33
24	78	2	1,80	1,10	1,20	1,30
25	68	1	1,60	1,40	1,30	1,50
26	80	1	1,57	1,88	1,33	1,94
27	81	2	2,17	1,99	2,13	1,94
28	76	2	1,05	1,31	1,33	1,18
29	62	1	1,88	1,61	1,35	1,91
30	85	1	1,11	1,22	1,30	1,01

LEUCOCITOS						
IDENTIFICAÇÃO			GLUTAMINA		CASEINATO	
Pacientes	Idade	Sexo	T0	T1	T0	T1
1	92	1	20.600	19.500	18.700	16.900
2	75	2	3.500	8.300	7.400	6.400
3	81	1	15.300	9.500	9.300	12.200
4	68	1	22.200	23.000	22.000	18.400
5	82	2	22.900	18.700	17.000	12.600
6	75	2	12.800	9.900	7.200	10.700
7	72	2	31.900	24.300	25.300	29.100
8	92	2	8.900	7.600	12.100	8.100
9	30	1	11.200	9.000	12.300	12.100
10	74	1	13.100	9.700	20.000	18.300
11	76	2	11.500	11.100	13.900	11.100
12	70	2	11.020	11.420	23.400	6.000
13	81	2	12.100	11.500	12.300	10.200
14	83	1	15.100	16.100	14.400	20.400
15	58	1	16.300	17.000	13.400	11.900
16	63	1	14.060	10.070	10.430	10.400
17	64	2	10.700	11.000	17.500	10.800
18	87	1	9.400	6.600	3.900	4.900
19	53	2	9.400	10.800	13.000	13.800
20	84	1	13.200	21.100	13.600	8.100
21	87	1	12.900	10.000	9.100	10.100
22	84	1	12.300	11.000	18.100	13.400
23	72	2	16.800	18.900	19.100	18.200
24	78	2	12.300	12.300	15.700	7.900
25	68	1	13.900	7.200	6.800	7.200
26	80	1	7.000	9.200	12.900	5.700
27	81	2	12.100	13.000	13.700	12.500
28	76	2	16.700	9.200	14.500	16.800
29	62	1	13.000	11.900	22.300	16.200
30	85	1	12.720	9.000	6.490	5.500

MONOCITOS						
IDENTIFICAÇÃO			GLUTAMINA		CASEINATO	
Pacientes	Idade	Sexo	T0	T1	T0	T1
1	92	1	412	374	354	676
2	75	2	425	332	148	148
3	81	1	459	465	432	175
4	68	1	444	1380	368	501
5	82	2	458	374	680	630
6	75	2	234	297	216	749
7	72	2	626	729	1345	1164
8	92	2	258	856	170	324
9	30	1	336	270	408	242
10	74	1	262	530	840	366
11	76	2	230	548	280	555
12	70	2	209	399	936	367
13	81	2	484	805	246	306
14	83	1	906	498	266	612
15	58	1	1141	1190	402	238
16	63	1	239	332	438	438
17	64	2	428	444	303	540
18	87	1	376	132	413	380
19	53	2	282	324	585	414
20	84	1	492	422	544	162
21	87	1	324	400	182	202
22	84	1	369	232	276	536
23	72	2	672	1323	955	1266
24	78	2	336	369	942	79
25	68	1	417	432	408	360
26	80	1	490	276	160	171
27	81	2	484	260	411	500
28	76	2	167	276	290	336
29	62	1	130	129	223	324
30	85	1	470	480	455	422

PEPTIDEO C						
IDENTIFICAÇÃO			GLUTAMINA		CASEINATO	
Pacientes	Idade	Sexo	T0	T1	T0	T1
1	92	1	1,15	5,88	6,42	3,25
2	75	2	3,28	4,82	6,02	6,94
3	81	1	5,54	3,35	2,97	2,97
4	68	1	12,30	11,30	10,10	5,54
5	82	2	6,19	3,79	2,11	0,76
6	75	2	4,58	4,47	1,66	2,71
7	72	2	3,70	6,77	3,58	2,42
8	92	2	2,44	4,10	3,35	4,17
9	30	1	7,15	8,52	10,00	1,97
10	74	1	6,37	7,70	3,15	2,09
11	76	2	11,70	8,02	1,99	4,47
12	70	2	1,61	3,31	3,61	0,85
13	81	2	3,43	1,90	5,03	9,25
14	83	1	0,85	0,47	1,91	1,79
15	58	1	5,21	5,19	4,41	10,60
16	63	1	0,54	2,01	2,03	1,92
17	64	2	1,44	4,60	2,91	2,14
18	87	1	5,69	5,36	0,83	4,10
19	53	2	1,47	2,56	3,21	3,37
20	84	1	6,28	5,66	7,48	8,47
21	87	1	4,68	6,12	6,55	6,40
22	84	1	0,93	0,70	8,29	2,92
23	72	2	3,31	2,85	4,14	1,66
24	78	2	10,90	9,93	9,21	13,25
25	68	1	3,90	6,80	4,41	3,30
26	80	1	4,24	4,05	5,18	4,42
27	81	2	12,67	4,13	2,64	0,85
28	76	2	4,24	0,59	2,41	1,37
29	62	1	7,79	4,94	4,00	4,99
30	85	1	2,33	5,70	3,08	5,97

PRÉ-ALBUMINA						
IDENTIFICAÇÃO			GLUTAMINA		CASEINATO	
Pacientes	Idade	Sexo	T0	T1	T0	T1
5	82	2	0,12	0,06	0,05	0,06
7	72	2	0,09	0,10	0,10	0,11
8	92	2	0,10	0,07	0,14	0,12
9	30	1	0,03	0,10	0,06	0,10
10	74	1	0,23	0,19	0,29	0,22
11	76	2	0,13	0,13	0,08	0,18
12	70	2	0,07	0,08	0,07	0,06
13	81	2	0,19	0,27	0,18	0,15
14	83	1	0,22	0,20	0,27	0,23
15	58	1	0,23	0,28	0,19	0,17
16	63	1	0,09	0,08	0,07	0,07
17	64	2	0,03	0,07	0,02	0,03
18	87	1	0,05	0,07	0,04	0,04
19	53	2	0,26	0,10	0,18	0,19
20	84	1	0,22	0,21	0,13	0,13
21	87	1	0,21	0,22	0,24	0,21
22	84	1	0,26	0,33	0,23	0,41
23	72	2	0,06	0,24	0,17	0,09
24	78	2	0,12	0,13	0,20	0,14
25	68	1	0,10	0,11	0,09	0,08
26	80	1	0,11	0,15	1,12	0,08
27	81	2	0,11	0,09	0,10	0,10
28	76	2	0,05	0,07	0,05	0,04
29	62	1	0,12	0,18	0,10	0,12
30	85	1	0,14	0,09	0,13	0,17

IL-10						
IDENTIFICAÇÃO			GLUTAMINA		CASEINATO	
Pacientes	Idade	Sexo	T0	T1	T0	T1
1	92	1	26,415	25,648	18,911	10,559
2	75	2	55,593	125,171	202,423	132,679
3	81	1	36,022	345,597	56,149	27,586
4	68	1	61,272	166,712	46,05	95,101
5	82	2	12,629	22,69	25,269	14,586
6	75	2	3,074	1,105	6,369	9,126
7	72	2	58,968	46,557	68,439	69,054
8	92	2	0,484	2,251	3,789	2,808
9	30	1	48,36	8,452	12,822	46,503
10	74	1	15,371	4,697	8,452	11,602
11	76	2	15,700	20,161	8,725	14,079
12	70	2	134,571	54,549	65,531	128,205
13	81	2	8,181	9,28	5,631	5,631
14	83	1	10,713	7,648	7,385	11,303
15	58	1	23,818	30,046	11,904	22,332
16	63	1	14,079	8,725	8,181	13,446
17	64	2	13,761	5,872	16,698	57,482
18	87	1	6,117	4,472	10,421	5,157
19	53	2	16,031	41,069	11,602	8,181
20	84	1	23,818	22,701	18,404	19,452
21	87	1	4,032	2,802	3,818	7,648
22	84	1	20,161	13,133	3,607	7,126
23	72	2	7,385	3,196	4,926	9,001
24	78	2	9,280	15,371	19,452	26,101
25	68	1	65,018	104,912	79,282	73,899
26	80	1	2,997	0,093	3,818	3,607
27	81	2	9,846	6,869	7,913	7,385
28	76	2	117,606	103,135	137,144	183,809
29	62	1	5,157	4,472	3,818	2,423
30	85	1	2,61	0,692	0,034	0,001

IL-1						
IDENTIFICAÇÃO			GLUTAMINA		CASEINATO	
Pacientes	Idade	Sexo	T0	T1	T0	T1
1	92	1	0,866	0,810	0,980	1,098
2	75	2	0,702	0,122	0,273	0,061
3	81	1	2,372	2,012	1,537	0,922
4	68	1	55,011	23,799	15,322	6,289
5	82	2	6,289	8,266	6,867	9,519
6	75	2	0,866	0,450	0,597	0,315
7	72	2	1,537	1,472	1,038	0,755
8	92	2	0,061	0,404	0,702	0,157
9	30	1	1,532	0,781	1,022	1,273
10	74	1	2,214	0,443	3,380	2,214
11	76	2	4,148	0,665	0,064	0,339
12	70	2	0,552	0,339	1,273	4,462
13	81	2	0,240	1,022	0,781	0,339
14	83	1	0,443	4,462	0,339	5,755
15	58	1	0,443	1,146	2,497	0,443
16	63	1	1,022	0,339	0,147	0,781
17	64	2	1,022	0,24	1,146	0,781
18	87	1	2,497	1,022	0,443	0,240
19	53	2	0,339	0,552	0,900	0,665
20	84	1	1,146	1,532	0,900	1,800
21	87	1	0,064	0,443	0,339	0,443
22	84	1	2,786	0,147	0,339	0,900
23	72	2	3,380	0,443	1,146	0,339
24	78	2	0,147	0,900	0,147	1,146
25	68	1	0,900	0,552	0,665	1,022
26	80	1	1,022	0,24	0,443	18,356
27	81	2	1,022	2,214	0,552	0,960
28	76	2	0,288	0,24	0,552	0,722
29	62	1	0,147	0,552	0,900	0,028
30	85	1	0,960	25,604	0,390	0,028

IL-6						
IDENTIFICAÇÃO			GLUTAMINA		CASEINATO	
Pacientes	Idade	Sexo	T0	T1	T0	T1
1	92	1	29,119	20,934	136,905	97,626
2	75	2	19,876	22,940	28,980	7,989
3	81	1	68,325	465,576	114,229	101,695
4	68	1	35,081	178,058	118,05	47,931
5	82	2	116,137	194,517	150,192	216,742
6	75	2	9,729	12,615	14,6	10,439
7	72	2	13,602	8,536	7,989	25,658
8	92	2	70,086	436,142	49,598	80,962
9	30	1	29,174	5,547	66,214	8,777
10	74	1	33,640	42,317	50,531	80,632
11	76	2	1,749	22,017	15,442	7,622
12	70	2	146,882	115,679	98,782	188,758
13	81	2	22,191	33,640	32,512	15,442
14	83	1	42,317	28,807	8,341	20,461
15	58	1	23,77	28,807	51,142	9,366
16	63	1	51,142	9,366	23,77	28,807
17	64	2	148,378	116,871	315,082	175,01
18	87	1	170,899	167,317	243,121	185,107
19	53	2	85,328	225,164	131,837	17,085
20	84	1	20,29	92,35	63,439	34,585
21	87	1	5,547	3,984	13,038	13,831
22	84	1	9,366	27,168	4,494	7,198
23	72	2	264,391	15,279	8,924	29,725
24	78	2	30,835	131,105	28,807	20,119
25	68	1	113,066	99,244	94,409	172,439
26	80	1	105,527	41,139	44,892	35,155
27	81	2	36,682	15,605	18,759	19,777
28	76	2	297,335	178,622	71,612	233,022
29	62	1	37,835	5,681	29,541	8,052
30	85	1	15,768	6,362	8,052	4,623

TNFα						
IDENTIFICAÇÃO			GLUTAMINA		CASEINATO	
Pacientes	Idade	Sexo	T0	T1	T0	T1
1	92	1	0,883	1,038	1,61	1,038
2	75	2	5,574	1,527	0,883	0,587
3	81	1	1,87	1,697	1,197	1,197
4	68	1	65,748	26,837	127,84	208,206
5	82	2	0,316	0,083	0,587	1,425
6	75	2	0,193	0,91	5,154	0,555
7	72	2	0,448	0,083	0,603	0,193
8	92	2	0,293	0,293	0,083	0,603
9	30	1	0,947	1,306	2,544	1,931
10	74	1	0,818	0,419	0,652	0,91
11	76	2	1,075	0,964	0,057	0,000
12	70	2	0,419	0,564	1,019	0,419
13	81	2	0,419	1,548	0,216	0,146
14	83	1	0,216	0,114	0,752	0,334
15	58	1	0,18	1,075	0,376	0,18
16	63	1	6,84	37,612	27,249	21,932
17	64	2	0,419	0,033	0,702	0,334
18	87	1	0,146	0,702	0,216	0,033
19	53	2	0,652	0,555	1,189	1,736
20	84	1	1,482	0,419	0,334	1,61
21	87	1	1,189	0,555	0,463	0,216
22	84	1	0,603	1,131	0,463	0,033
23	72	2	1,189	0,702	0,509	3,2
24	78	2	0,114	0,114	0,555	2,46
25	68	1	1,365	1,486	1,189	0,964
26	80	1	0,293	1,736	0,603	0,293
27	81	2	1,131	1,365	1,865	1,425
28	76	2	0,216	0,321	0,964	0,509
29	62	1	1,075	1,306	0,91	1,189
30	85	1	1,306	0,964	0,463	0,114

GSH TOTAL						
IDENTIFICAÇÃO			GLUTAMINA		CASEINATO	
Pacientes	Idade	Sexo	T0	T1	T0	T1
1	92	1	333,65	486,27	345,89	202,36
2	75	2	299,71	154,33	306,39	280,98
3	81	1	223,12	264,48	176,02	201,98
4	68	1	355,90	327,16	357,20	335,69
5	82	2	568,23	448,62	507,59	473,84
6	75	2	249,64	285,80	253,91	307,69
7	72	2	642,60	474,96	515,01	484,23
8	92	2	503,33	552,66	439,17	504,81
9	30	1	182,88	201,43	206,99	244,06
10	74	1	634,44	575,10	765,73	638,15
11	76	2	246,12	302,68	445,66	331,98
12	70	2	591,60	712,88	741,07	627,58
13	81	2	323,26	361,84	367,21	367,96
14	83	1	578,62	466,8	651,50	665,78
15	58	1	852,15	861,42	748,11	768,70
16	63	1	358,68	369,81	272,82	223,12
17	64	2	426,00	403,56	591,04	497,95
18	87	1	478,11	452,15	505,92	519,46
19	53	2	449,55	204,95	507,96	447,14
20	84	1	415,43	348,48	499,99	445,66
21	87	1	686,92	512,97	465,68	191,41
22	84	1	613,30	643,89	490,53	702,49
23	72	2	586,41	510,75	576,39	592,34
24	78	2	448,07	461,23	468,28	509,08
25	68	1	407,27	468,84	488,49	363,13
26	80	1	642,60	751,08	761,28	736,80
27	81	2	656,69	347,56	343,66	352,38
28	76	2	364,80	460,12	701,20	477,55
29	62	1	389,47	415,43	420,62	412,09
30	85	1	317,33	649,64	657,99	625,72

TBARS						
IDENTIFICAÇÃO			GLUTAMINA		CASEINATO	
Pacientes	Idade	Sexo	T0	T1	T0	T1
1	92	1	52,868	28,059	20,559	13,636
2	75	2	22,29	21,713	23,444	13,636
3	81	1	64,406	33,829	30,367	14,213
4	68	1	14,79	14,79	19,982	13,636
5	82	2	51,137	21,713	19,405	24,598
6	75	2	9,597	21,713	36,136	15,367
7	72	2	48,829	22,29	19,982	13,059
8	92	2	17,097	13,636	14,213	37,29
9	30	1	18,828	11,328	52,291	20,559
10	74	1	17,674	16,525	11,905	15,367
11	76	2	15,367	17,674	51,714	32,675
12	70	2	7,29	5,559	3,251	4,982
13	81	2	4,405	2,674	36,136	11,328
14	83	1	8,443	4,982	4,982	5,559
15	58	1	3,251	3,828	37,29	14,213
16	63	1	5,559	4,982	11,905	6,136
17	64	2	2,674	1,52	42,483	15,367
18	87	1	4,982	2,674	6,136	3,828
19	53	2	2,674	3,828	43,637	15,367
20	84	1	52,868	28,059	20,559	13,636
21	87	1	22,29	21,713	23,444	13,636
22	84	1	30,367	14,213	64,406	33,829
23	72	2	19,982	13,636	14,79	14,79
24	78	2	51,137	21,713	19,405	24,598
25	68	1	9,597	21,713	36,136	15,367
26	80	1	19,982	13,059	48,829	22,29
27	81	2	14,213	37,39	17,097	13,636
28	76	2	18,828	11,328	52,291	20,559
29	62	1	17,674	16,521	11,905	15,367
30	85	1	51,714	32,675	15,367	17,674

PACIENTES	GLUTAMINA $\mu\text{mol/L}$			
	CASEINATO T0	CASEINATO T1	GLUTAMINA T0	GLUTAMINA T1
1	1548,74	1252,29	1458,70	1773,25
2	871,91	1149,36	1279,38	450,19
4	3085,82	1018,11	1433,88	992,67
5	892,49	1379,63	2065,37	1183,24
6	1678,41	1309,21	1500,32	1566,84
7	1706,80	1606,54	1422,70	1858,89
8	2065,37	1178,16	1204,57	1045,89
9	2186,06	1239,61	931,64	2186,06
10	1059,12	1773,25	1586,04	1979,65

PACIENTES	GLUTAMATO $\mu\text{mol/L}$			
	CASEINATO T0	CASEINATO T1	GLUTAMINA T0	GLUTAMINA T1
1	1671,19	891,73	545,03	1331,29
2	815,43	774,54	856,65	993,25
3	620,40	846,38	1098,10	699,50
4	636,94	582,78	1111,18	812,09
5	785,68	579,18	550,90	912,81
6	698,44	1205,62	512,61	1478,83
7	1015,26	3196,22	829,57	1040,21
8	985,25	747,79	774,61	818,10
9	745,39	1154,13	3041,74	578,91
10	644,28	817,70	320,65	626,40

PACIENTES	RAZÃO GLUTAMATO/GLUTAMINA $\mu\text{mol/L}$			
	CASEINATO T0	GLUTAMINA T0	CASEINATO T1	GLUTAMINA T1
1	1,079066602	0,37363896	0,712080866	0,750762187
2	0,935216578	0,669582082	0,67388748	2,206311428
3	0,201048278	0,76582889	0,831319507	0,704667512
4	0,713668558	0,538003476	0,422415771	0,686331206
5	0,468110191	0,367185132	0,442387302	0,582580707
6	0,409208681	0,360308823	0,750445481	0,795540798
7	0,491564056	0,688687591	2,712880294	0,994571127
8	0,450695233	0,831444187	0,603251908	0,374233378
9	0,703785587	1,917820804	0,650857744	0,292430208
10	0,411194831	0,288693213	0,769561135	0,353250836

APÊNDICE E - CÁLCULO DO PADRÃO DE AMINOÁCIDOS DA FONTE PROTÉICA: mg de aminoácido / g de proteína

Aminoácidos	Dieta Enteral	Caseinato de Cálcio	L-Glutamina	Grupo Caseinato	Grupo Glutamina
L-Glutamina	0	-	999	-	375,00
Isoleucina	50,50	52,20	-	53,00	33,47
Leucina	92,10	90,90	-	90,9	56,87
Lisina	74,60	74,70	-	75,30	47,36
Metionina	20,60	27,00	-	24,75	14,62
Fenilalanina	37,20	48,60	-	42,10	23,90
Treonina	47,40	41,40	-	49,59	34,00
Triptofano	13,20	12,60	-	15,80	11,10
Valina	53,90	66,60	-	60,00	35,00
Histidina	21,30	28,80	-	24,10	13,30
Alanina	35,10	27,90	-	32,40	24,80
Arginina	34,40	34,20	-	31,80	19,00
Ácido aspártico	85,60	65,70	-	90,34	65,70
Cisteína	12,80	3,60	-	12,90	11,59
Ácido glutâmico	167,70	200,70	-	187,80	112,55
Glicina	18,90	17,10	-	18,39	12,00
Prolina	71,00	94,50	-	76,72	41,29
Serina	53,40	56,70	-	52,31	31,00
Tirosina	35,30	52,20	-	42,10	22,55
Total (mg AA/g proteína)	925mg	995mg	999mg	980mg	966mg
Total proteína /dia	50g	30g	30g	80g	80g

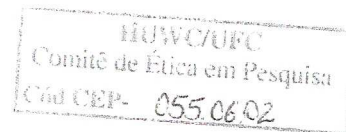
ANEXOS

ANEXO A - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO WALTER CANTÍDIO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Rua Capitão Francisco Pedro, 1290 – Rodolfo Teófilo – 60.430-370 – Fortaleza-CE
FONE: (85) 3360-3588 / 4611-8213 - FAX: (85) 381-4501 - E-MAIL: cepihuwc@huwc.ufc.br



Protocolo nº: 055.06.02

Pesquisador Responsável: Ana Augusta Monteiro Cavalcante

Departamento / Serviço: Cirurgia


Título do Projeto: “Efeito da L-Glutamina em doses nutracêuticas sobre o estresse oxidativo, a inflamação e o metabolismo glicolítico de pacientes graves.”

O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Walter Cantídio analisou na sessão do dia 04/12/06 o projeto de pesquisa: **“Efeito da L-Glutamina em doses nutracêuticas sobre o estresse oxidativo, a inflamação e o metabolismo glicolítico de pacientes graves”**, tendo como pesquisador responsável Ana Augusta Monteiro Cavalcante.

Baseando-se nas normas que regulamentam a pesquisa em seres humanos, do Conselho Nacional de Saúde (Resoluções CNS 196/96, 251/97, 292/99, 303/00, 304/00, 347/05, 346/05), o Comitê de Ética resolve classificar o referido projeto como: **APROVADO**.

Salientamos a necessidade de apresentação de relatório ao CEP-HUWC da pesquisa dentro de 12 meses (data prevista: 04/12/06).

Fortaleza, 04 de dezembro de 2006.

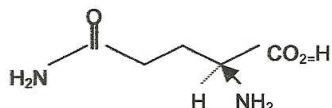

Coordenadora do CEP - HUWC

Profª Drª Marta M das Chagas Medeiros
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa
CEPIHUWC/UFCE

ANEXO B – FICHAS TÉCNICAS DOS SUPLEMENTOS

L-Glutamina DAB L-Glu (NH₂)

L-Glutamina
ácido (S)-2-Aminoglutaramico



CAS No. 56-85-9

C₅H₁₀N₂O₃: 146.14
Nitrogênio: 19.17%

A L-Glutamina, quando seca, contém não menos que 99.0 por cento e não mais que 101.0 por cento de L-Glutamina (C₅H₁₀N₂O₃).

Descrição: Cristais ou pó cristalino brancos; sabor ligeiramente característico. Solúvel em água, praticamente insolúvel no etanol (95) e no éter dietil.
Solubilidade (H₂O, g/100g): 3.73 (20°C), 6.57 (40°C), 11.2 (60°C)

Identificação: Comparação do gráfico de absorção infravermelho da amostra com o do padrão pelo método do disco do brometo do potássio.

Especificações

Ítem	Limite	Teste	
Rotação Específica [α] _D ²⁰	+ 6.3 a + 7.3° + 31.5 a + 33.0°	AJI TEST 1	[amostra seca, C=4, H ₂ O] [amostra seca, C=10, 2mol/L HCl] ¹
Estado da Solução (Transmittance)	Claro e Transparente Não menos que 98.0%	AJI TEST 2	[0.5g em 20mL de H ₂ O, espectrofotômetro, 430nm, célula de 10mm]
Cloro (Cl)	Not more than 0.020%	AJI TEST 3	[0.5g, A-1, ref: 0.28mL de 0.01mol/L HCl]
Amônia (NH₄)	Não mais que 0.10%	AJI TEST 4	[45°C, A-Titrimetry]
Sulfato (SO₄)	Não mais que 0.020%	AJI TEST 5	[0.85g, (1), ref: 0.35mL de 0.005mol/L H ₂ SO ₄]
Ferro (Fe)	Não mais que 10ppm	AJI TEST 6	[0.75g, ref: 0.75mL de Ferro Padrão (0.01mg/mL)]
Metais Pesados (Pb)	Não mais que 10ppm	AJI TEST 7	[1.0g, (1), ref: 1.0mL de Padrão Pb (0.01mg/mL)]
Arsênico (As₂O₃)	Não mais que 1ppm	AJI TEST 8	[2.0g, (1), ref: 2.0mL de As ₂ O ₃ Std.]
Outros aminoácidos	Conforme	AJI TEST 9	[Amostra teste: 50µg, B-6-a, controle; L-Glu (NH ₂) 0.25µg]
Perda por secagem	Não mais que 0.30%	AJI TEST 11	[1g, a 105°C por 3 horas]
Resíduo na ignição (sulfatado)	Não mais que 0.10%	AJI TEST 13	[1g, a 550°C a 650°C por 3 horas]
Dosagem	99.0 a 101.0%	AJI TEST 14	[amostra seca, 150mg, (1), 3mL de ácido fórmico, 50mL de ácido acético, (100), 0.1mol/L HClO ₄ 1mL=14.614mg C ₅ H ₁₀ N ₂ O ₃]
PH	4.5 a 6.0	AJI TEST 33	[1.0g em 50mL de H ₂ O]

O teste para substâncias pirogênicas quando o material é utilizado na produção de produto parenteral é o seguinte:

Endotoxina	Menos que 50.0 EU/g	AJI TEST 34	[C=0.12, kinetic-turbidimetrictechnique]
-------------------	---------------------	-------------	--

¹ Para impedir a decomposição da L-Glutamina pelo ácido hidroclicóric, medir dentro de 30 minutos após a preparação da solução da amostra.

² Impureza provável: L-Ácido Glutâmico

AJINOMOTO

AJINOMOTO

Página 1 de 1

CERTIFICADO DE ANÁLISE**RESULTADOS ANALÍTICOS DE: L-GLUTAMINA****LOT Nº : 06 0297 K 03 BA**

ITEM	LIMITE	RESULTADO
Descrição	Conforme	Conforme
Identificação (FT-IR)	Conforme	Conforme
Rotação Específica (D,20°) - H ₂ O	+6,3 a +7,3°	+6,6°
Rotação Específica (D,20°) - HCl	+31,5 a +33,0°	+32,2°
Estado da Solução (Transmitância)	≥ 98,0%	≥ 98,0%
Estado da Solução	Transparente & Incolor	Transparente & Incolor
Cloretos (Cl)	≤ 0,020%	≤ 0,020%
Amônia (NH ₄)	≤ 0,10%	≤ 0,10%
Sulfato (SO ₄)	≤ 0,020%	≤ 0,020%
Ferro (Fe)	≤ 10 ppm	≤ 10 ppm
Metais Pesados (Pb)	≤ 10 ppm	≤ 10 ppm
Arsênico (As ₂ O ₃)	≤ 1 ppm	≤ 1 ppm
Substâncias Relacionadas	Conforme	Conforme
Perda por secagem	≤ 0,30%	0,05%
Resíduo de ignição (sulfatado)	≤ 0,10%	0,02%
Pureza	99,0 a 101,0%	100,1%
pH	4,5 a 6,0	5,4

Certificamos que a qualidade deste produto está em conformidade com os requerimentos do USP para Impurezas Orgânicas Voláteis.

Certificamos que a qualidade deste produto está em conformidade com o DAB e a USP.

Data de Fabricação: 07 de Novembro de 2006

Data de Validade: 05 de Novembro de 2009


Olivier Zanella Filho
 Gerente de QA / QC
 Planta LA

Limeira, 16 de dezembro de 2006 - Unidade LA
 Ajinomoto Interamericana Ind. e Com. Ltda
 Rodovia Anhanguera, Km 131
 Bairro Jaguari - Limeira - SP - Br



Versão da Espec.: 001
Data de Revisão: 12/6/2007

ESPECIFICAÇÃO TÉCNICA DE MATÉRIA-PRIMA

Kerry do Brasil Ltda. Rua Cristiano Alves da Silva, n. 15, Parque Jussara 37410-000, Três Corações-MG-Brasil
Fax (019) 37655009 Telefone (019) 37655000 ou 37655017

DETALHES DO PRODUTO

Código do Item: 530007

Nome: Caseinato de cálcio

Descrição: Proteína de leite em pó tratada com monoleato de glicerila de grau alimentício

DECLARAÇÃO DE INGREDIENTES

Caseinato de cálcio e monoglicerídeos

DECLARAÇÃO RECOMENDADA

Caseinato

MODO DE APLICAÇÃO / NÍVEL DE USO RECOMENDADO OU GESTÃO DIÁRIA ACEITA

PARÂMETROS ANALÍTICOS (Obs: Constar nos laudos de análises)

Teste	Min	Típico	Max	Unidade	Método
Proteínas Totais	92,1	92,1		G/100G	
Gorduras Totais		1,5	2	G/100G	
Cinzas			4,5	G/100G	
Umidade			6	G/100G	
pH	6,8		7,5		
Contagem Total (UFC/g)			3000	CFU/G	
Coliformes Totais (UFC/g)			1	CFU/G	
E. coli em 1g			0	CFU/G	
Salmonella spp. em 25g			0		
Estafilococos Coagulase			0	CFU/G	
Bolores e Leveduras (UFC/g)			10	CFU/G	

PARÂMETROS ANALÍTICOS - Parâmetros Caracterizadores (Facultativo a informação no laudo)

Teste	Min	Típico	Max	Unidade	Método
Lactose (percent)			0,3	G/100G	
Densidade	0,3		0,4	G/ML	

AVALIAÇÃO SENSORIAL:



Versão da Espec.: 001
Data de Revisão: 12/6/2007

ESPECIFICAÇÃO TÉCNICA DE MATÉRIA-PRIMA

Kerry do Brasil Ltda. Rua Cristiano Alves da Silva, n. 15, Parque Jussara 37410-000, Três Corações-MG-Brasil
Fax (019) 37655009 Telefone (019) 37655000 ou 37655017

Aparência: Pó
Cor: Branco a levemente creme
Odor: Isento de odores estranhos
Sabor: Isento de sabores estranhos

GRANULOMETRIA (Se aplicável):

* N/A - Não aplicável ou não requerido para esse tipo de Matéria-prima

INFORMAÇÕES ADICIONAIS:

Partículas queimadas: Disco A (CONSTAR NO LAUDO)

Solubilidade em água: mínimo 99%

Partículas queimadas: Disco A-B

No recebimento avaliar pH, umidade e descrição sensorial



Versão da Espec.: 001
Data de Revisão: 12/6/2007

ESPECIFICAÇÃO TÉCNICA DE MATÉRIA-PRIMA

Kerry do Brasil Ltda. Rua Cristiano Alves da Silva, n. 15, Parque Jussara 37410-000, Três Corações-MG-Brasil
Fax (019) 37655009 Telefone (019) 37655000 ou 37655017

INFORMAÇÃO NUTRICIONAL

Nutrientes	Valor Típico	Unidade
Valor Energético em kcal	377,0	KCAL/100G
Valor Energético em kJ	1.601,0	KJ/100G
Carboidratos Totais	0,1	G/100G
Proteína	92,1	G/100G
Gorduras Totais	1,5	G/100G
Gorduras Saturadas	1,1	G/100G
Gorduras Trans	0,1	G/100G
Fibras Alimentares	0,0	G/100G
Sódio	5,0	MG/100G

GRUPOS POPULACIONAIS

Sim = Adequado para, Não = Inadequado

Adequado para Ovo-lacto Vegetarianos	Sim
Adequado para Vegetalistas (Vegetariano estrito)	Não
Aprovado pelos preceitos judaicos (Kosher)	Sim
Aprovada pelos preceitos islâmicos (Halal)	Não
Adequado para Diabéticos	Sim
Adequado para Ovo Vegetarianos	Não
Adequado para Lacto Vegetarianos	Sim
Adequado para Celiacos	Sim

ADITIVOS

Monoglicerídeos (INS 471) - emulsificante

ORGANISMOS GENETICAMENTE MODIFICADOS

O produto é considerado livre de OGM? Sim

O produto deve ser rotulado como geneticamente modificado? Não

OGM COMENTÁRIOS

O material deve estar livre da presença de qualquer OGM - organismo geneticamente modificado e atender às disposições legais vigentes

IRRADIAÇÃO

O produto foi irradiado? Não



Versão da Espec.: 001
Data de Revisão:12/6/2007

ESPECIFICAÇÃO TÉCNICA DE MATÉRIA-PRIMA

Kerry do Brasil Ltda. Rua Cristiano Alves da Silva, n. 15, Parque Jussara 37410-000, Três Corações-MG-Brasil
Fax (019) 37655009 Telefone (019) 37655000 ou 37655017

Free-From data (dados de alergênicos / intolerância)

<u>Produtos de Origem Animal</u>	Sim = Ausente, Não = Presente	Comentários
Outros produtos de origem animal	Sim	
Peixe/ Frutos do mar/ Derivados	Sim	
Carne/ Derivados	Sim	
Frango/ Derivados	Sim	
Lactose	Não	Proteína Lactea
Porco/ Derivados	Sim	
Coalho (se não, descrever tipo)	Sim	
Ovo/ Derivados	Sim	
Gelatina	Sim	
Molusco/ Crustáceos/ Derivados	Sim	
Leite/ Derivados	Não	Proteína Lactea

<u>Cereais / Vegetais / Frutas</u>	Sim = Ausente, Não = Presente	Comentários
Glúten	Sim	
Soja / Derivados	Sim	
Vegetais/ Derivados	Sim	
Alho/ Derivados	Sim	
Cebola/ Derivados	Sim	
Fruta & Derivados de Fruta	Sim	
Cereais contendo glúten	Sim	
Umbelliferae/ Derivados	Sim	
Aipo/ Derivados	Sim	
Milho / Derivados	Sim	
Tremoço e derivados	Sim	

Castanhas e Sementes (incluindo óleos ou outros derivado)		
<u>Sementes e Derivados</u>	Sim = Ausente, Não = Presente	Comentários
Amendoins / Derivados	Sim	
Coco/ derivados	Sim	
Palma / Palmiste / derivados	Sim	
Sementes de gergelim	Sim	
Outros Óleos de castanhas	Sim	
Óleo de semente/ outros óleos vegetais	Sim	
Outras castanhas/ derivados	Sim	
Outras Sementes (excluindo condimentos)	Sim	
Sementes de Papoula	Sim	
Mostarda / Derivados	Sim	
Sementes de Algodão	Sim	



Versão da Espec.: 001
Data de Revisão: 12/6/2007

ESPECIFICAÇÃO TÉCNICA DE MATÉRIA-PRIMA

Kerry do Brasil Ltda. Rua Cristiano Alves da Silva, n. 15, Parque Jussara 37410-000, Três Corações-MG-Brasil
Fax (019) 37655009 Telefone (019) 37655000 ou 37655017

<u>Free-From Outros</u>	Sim = Ausente, Não = Presente	Comentários
Levedura/ Extrato de Levedura	Sim	
Corantes Naturais	Sim	
Corantes Artificiais	Sim	
Conservador	Sim	
Nucleotídeos INS 627, 631, 635	Sim	
Aditivos	Não	INS 471
Edulcorantes (Artificiais)	Sim	
Ácidos Orgânicos	Sim	
BHA/ BHT- E320/E321 (calculado)	Sim	
Álcoois	Sim	
Aspartame	Sim	
Cafeína	Sim	
Cacau/ Derivados	Sim	
Aroma de Reação/Transformação	Sim	
Aromas Artificiais	Sim	
Aromas Naturais	Sim	
Aromas Idênticos aos Naturais	Sim	
Aromas de fumaça	Sim	
SO2 (incluir nível em ppm)	Sim	
Total de HVP/ TVP (calculado)	Sim	
Total de MSG e outros Glutamatos (calculado)	Sim	
Benzoatos	Sim	
Nitritos e Nitratos	Sim	
Nitrofurano & Azodicarbonamida	Sim	

SHELF-LIFE & ARMAZENAMENTO

Manter em local seco e fresco e livre de odores estranhos

Shelf-Life (Embalagem fechada) 730 Dias a partir da data de fabricação

EMBALAGEM

Peso Líquido 20KG

Peso Bruto 20,4KG

Tipo de Embalagem: Saco de papel multifolhado com polietileno interno

TRANSPORTE: Deve ser transportado em veículo limpo e seco, que tenha condições de manter a temperatura adequada do produto e livre de substâncias ou produtos que possam contaminá-lo ou danificá-lo, de acordo com as Boas Práticas de Transporte, e que seja apropriado para o transporte de alimentos.

COMENTÁRIOS



Versão da Espec.: 001
Data de Revisão: 12/6/2007

ESPECIFICAÇÃO TÉCNICA DE MATÉRIA-PRIMA

Kerry do Brasil Ltda. Rua Cristiano Alves da Silva, n. 15, Parque Jussara 37410-000, Três Corações-MG-Brasil
Fax (019) 37655009 Telefone (019) 37655000 ou 37655017

DATA LIMITE PARA RECEBIMENTO DE INSUMO

Máximo de 4 meses transcorridos entre data de fabricação e data de faturamento para Kerry.

REQUISITOS GERAIS & GARANTIA

A informação contida neste documento é verdadeira do melhor do nosso conhecimento.
Qualquer modificação na qualidade e/ou especificação e/ou processos de fabricação e/ou formulação do material fornecido deverá ser informada pelo fornecedor e aprovada pela Kerry do Brasil Ltda.
O produto e embalagem utilizada deverão estar em acordo com as legislações vigentes aplicáveis.

AUTORIZAÇÃO

Autorizado em nome da Kerry do Brasil Ltda

Assinatura

Nome

Cargo

Data 12/6/2007

Autorizado em nome do Fornecedor

Nome

Assinatura

Cargo

Empresa

Data

ANEXO C - AMINOGRAMA DO CASEINATO DE CÁLCIO

Média dos valores possíveis:

- Isoleucina: 5,8 g/16.N
- Leucina: 10,1 g/16.N
- Lisina: 8,3 g/16.N
- Metionina: 3 g/16.N
- Cistina: 0,4 g/16.N
- Fenilalanina: 5,4 g/16.N
- Tirosina: 5,8 g/16.N
- Treonina: 4,6 g/16.N
- Triptofano: 1,4 g/16.N
- Valina: 7,4 g/16.N
- Arginina: 3,8 g/16.N
- Histidina: 3,2 g/16.N

Fonte: Kerry do Brasil Ltda.

ANEXO D – FICHA TÉCNICA DO NUTRI ENTERAL®

CARACTERÍSTICAS:

Proteínas a base de Soro de Leite, Caseinatos de Cálcio e Sódio e Proteína de Soja
 Não contém Sacarose, Frutose, Lactose e Glúten
 Contém Edulcorante Sucralose
 Corantes e Aromas Naturais
 Perfil Lipídico de acordo com AHA 2008 e ADA 2008
 Baixo teor de Sódio
 Densidade Calórica 1,2 Kcal/ml

INDICAÇÕES:

Desnutrição, Anorexia Nervosa, Neoplasias, Cardiopatias, Doenças Neurológicas.

DISTRIBUIÇÃO CALÓRICA:

Proteínas	17%
Carboidratos	58%
Lipídeos	25%

Fonte de Proteínas:

Soro de Leite 60%	Caseinato de Sódio 15%
Caseinato de Cálcio 15%	Proteína de Soja 10%

Fonte de Carboidratos: Maltodextrina 100%

Fonte de Lipídeos:

Óleo de Girassol 12%
 Óleo de Canola 79%
 TCM 9%

Perfil Lipídico da Dieta:

Saturados (% das Calorias Totais) – 3,8%
 Poliinsaturados (% das Calorias Totais) – 9,2%
 Monoinsaturados (% das calorias Totais) – 12,1%

Sódio: 900mg/L

Validade: 12 meses (1 ano)

Apresentações: Tetra Pak 1L e 200mL
 Sistema Fechado 1L e 250mL

Potássio: 1.700mg/L

Sabor: Baunilha

Proporção Kcal ã ptc/gN: 125:1

Osmolalidade: 340 mOsm/Kg

NUTRI ENTERAL
Informação Nutricional

Nutrientes	100ml	%VD *	1000ml
Valor Energético	120kcal/504kJ	6	1200
Carboidratos (g)	17,5	6	175
Proteínas (g)	5	7	50
Gorduras Totais (g)	3,3	6	33
Gorduras Saturadas (g)	0,5	2	5
Gorduras Trans (g)	0	**	0
Gorduras Monoinsaturadas (g)	1,6	**	16
Gorduras Poliinsaturadas (g)	1,2	**	12
Colesterol (mg)	0	**	0
Fibra Alimentar (g)	0	0	0
Sódio (mg)	90	4	900
Cálcio (mg)	105	11	1050
Ferro (mg)	1,5	11	15
Cloro (mg)	150	**	1500
Potássio (mg)	170	**	1700
Fósforo (mg)	100	14	1000
Magnésio (mg)	40	15	400
Iodo (mcg)	15	12	150
Cobre (mcg)	100	11	1000
Zinco (mg)	1,5	21	15
Manganês (mg)	0,5	22	5
Selênio (mcg)	10	29	100
Cromo (mcg)	9,5	27	95
Molibdênio (mcg)	12	27	120
Vitamina A (mcg RE)	135	23	1350
Vitamina D (mcg)	1	20	10
Vitamina E (mg)	2,5	25	25
Vitamina K (mcg)	11	17	110
Vitamina C (mg)	6,2	14	62
Vitamina B1 (mg)	0,14	12	1,4
Vitamina B2 (mg)	0,16	12	1,6
Niacina (mg)	1,7	11	17
Vitamina B6 (mg)	0,18	14	1,8
Ácido Fólico (mcg)	38	10	380
Ácido Pantotênico (mg)	0,85	17	8,5
Vitamina B12 (mcg)	0,5	21	5
Biotina (mcg)	2,5	8	25
Colina (mg)	50	9	500

*Valores diários de referência com base em uma dieta de 2000 calorias ou 8400kJ. Seus valores diários podem ser maiores ou menores dependendo de suas necessidades energéticas

** IDR não especificada

AMINOGRAMA

Total de Proteínas:

17% do VCT Total da Dieta

Proteína de Referência:

Soro de Leite: 60% = 3g/100ml

Caseinato de Cálcio: 15% = 0,75g/100ml

Caseinato de Cálcio: 15% = 0,75g/100ml

Proteína de Soja: 10% = 0,5g/100ml

Aminoácidos	Nutri Enteral (mg de aa/g de proteína)
Isoleucina	50,5
Leucina	92,1
Lisina	74,6
Metionina	20,6
Fenilalanina	37,2
Treonina	47,4
Triptofano	13,2
Valina	53,9
Histidina	21,3
Alanina	35,1
Arginina	34,4
Ácido aspártico	85,6
Cisteína	12,8
Ácido Glutâmico	167,7
Glicina	18,9
Prolina	71
Serina	53,4
Tirosina	35,3

Reg. MS: 5.7419.0024.001-5

CUIDADOS DE CONSERVAÇÃO:

Fórmula estéril. Pode ser armazenada à temperatura ambiente com a embalagem fechada. Após aberta deve ser tampada e conservada sob refrigeração por um período máximo de 24h. Pode ser ingerida à temperatura ambiente ou resfriada. Agitar bem antes de usar. Evitar congelar ou estocar em alta temperatura.

MODO DE ADMINISTRAÇÃO:

O volume e velocidade de infusão da fórmula devem ser ajustados conforme a necessidade e a tolerância do paciente sob supervisão do médico e ou nutricionista. Higienizar a caixa antes de usar com álcool à 70GL. Evitar a contaminação na abertura da caixa e durante o uso.

INGREDIENTES:

Água, maltodextrina, soro de leite, óleo de canola, caseinato de cálcio, caseinato de sódio, proteína de soja, óleo de girassol, fosfato bicálcico anidro, fosfato bipotássio anidro, óleo de coco refinado, cloreto

de sódio, sulfato de magnésio monohidratado, citrato de colina, fosfato de magnésio monohidratado, cloreto de potássio, vitamina E acetato, vitamina C cristal, pirofosfato férrico, sulfato de zinco monohidratado, niacina, vitamina K, vitamina A acetato, pantotenato de cálcio, sulfato de manganês monohidratado, vitamina D3, vitamina B12, vitamina B6, cromo quelato, vitamina B2, vitamina B1, sulfato de cobre anidro, ácido fólico, molibdato de sódio dihidratado, selenito de sódio, iodeto de potássio, biotina, (aroma) aroma natural de baunilha, (espessante) carragena, (emulsificante) goma xantana, (INS 150d) corante caramelo IV, (edulcorante) sucralose.

CONTROLES ESPECIAIS DURANTE A DISTRIBUIÇÃO E COMERCIALIZAÇÃO:

Evitar choques mecânicos (pancadas, amassados) nas embalagens. Armazenar sobre estrados (paletes), em local limpo, seco e arejado, isento de odores fortes e de pragas.

ANEXO E – Tradução do protocolo e técnicas laboratoriais específicas para avaliar a capacidade antioxidante - GSH 420 –Assay

DOSAGEM DA GLUTATIONA – Ensaio BIOXYTECH® GSH™ 420

A Glutationa Total dosada (BIOXYTECH® GSH 420 –Assay) que se encontra na forma reduzida (GSH) inclui toda a glutaciona livre e as outras formas ligadas, os chamados dissulfidos, tais como glutaciona – cisteína. Como a quantidade de glutaciona ligada é considerável, principalmente na glutaciona presente nas células, autores a definem como “glutaciona celular total” (SIES, 1999).

Os reagentes são disponibilizados pelo fabricante e devem ser estocados a 2 - 8°C no escuro. Após aberto, o reagente de precipitação pode degradar com o tempo e o sinal desta degradação é o odor de clorofórmio.

Após a coleta do sangue as normas de procedimento da preparação das amostras devem ser seguidas conforme descritas abaixo:

Sangue total

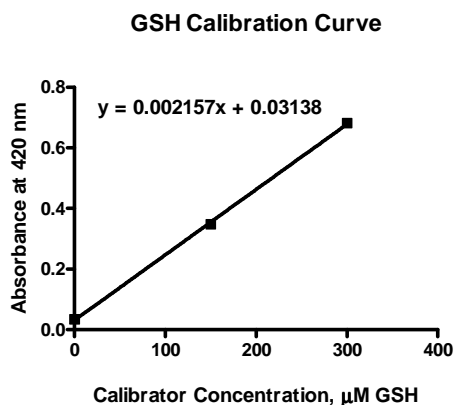
1. Após coletado colocar o sangue em tubo com anticoagulante
2. Homogeneizar o sangue por inversão
3. Colocar 100 µL do sangue total em um tubo eppendorf
4. Adicionar 300 µL do Reagente de Precipitação
5. Levar ao vortex por 15 segundos
6. Centrifugar a 10.000 x g por 5 minutos em temperatura ambiente
7. Coletar o sobrenadante para o ensaio. Guardar em banho de gelo por 24 horas ou, se não for usar imediatamente, em freezer □ 70°C

Procedimentos do ensaio

1. Adicionar 200 µL do sobrenadante (ou calibrador) da amostra em tubo teste
2. Adicionar 200 µL do Tampão (Buffer) para reação da mistura
3. Adicionar 200 µL do Agente Redutor (Reducing Agent) e misturar bem
4. Adicionar 200 µL do Cromogênio e misturar bem
5. Adicionar 200 µL do Revelador de Cor (Color Developer) e misturar bem
6. Incubar a temperatura ambiente, no escuro, por 30 minutos
7. Medir a absorbância em 420 nm

Calibração

Uma curva de calibração com 3 pontos é preparada com cada grupo de amostra utilizando água como calibrador zero. Os calibradores alto e baixo são fornecidos e adicionados no passo 1 do procedimento do ensaio. Os calibradores são compostos de glutathiona dissulfido, que é a glutathiona-oxidada (GSSG) e que durante o ensaio é reduzida a GSH. Dois moles de GSH resultam de cada mol de GSSG.



Cálculos

A absorbância 420 nm é linearmente proporcional a concentração de GSH. A calibração da curva é estabilizada por regressão linear da absorbância *versus* concentração pelos três calibradores, incluindo zero.

Cuidados fundamentais

O cromóforo formado no ensaio é fotossensível. Assim, toda a reação deve ser incubada no escuro, pois ocorre perda de 5% na absorbância quando exposta a luz por 30 minutos e perda de 70% após 24 horas de exposição à luz. Portanto, realizar a incubação no escuro é uma condição essencial para evitar as perdas na absorbância, o que pode alterar os resultados finais.

ANEXO F – Tradução do protocolo e técnicas laboratoriais específicas para avaliar a capacidade antioxidante - TBARS –Assay Kit

DOSAGEM DO TBARS – Ensaio CAYMAN CHEMICAL COMPANY® TBARS – Assay Kit

A avaliação da dosagem da concentração de substâncias reagentes do Ácido Tiobarbitúrico – TBARS foi realizada no plasma obtido do sangue venoso através da medida do MDA – Dialdeído Malônico, substância formada na peroxidação lipídica.

Utilizou-se o ensaio da CAYMANN'S® Assay Kit denominado medida das Substancias Reativas do Ácido Tiobarbitúrico, utilizado na avaliação do nível de peroxidação lipídica. Esta técnica permite quantificar o MDA formado na peroxidação lipídica. O teste com o ácido tiobarbitúrico foi feito no plasma e o resultado obtido foi expresso em μM MDA.

O kit da CAYMANN'S® para medir Substancias Reativas do Ácido Tiobarbitúrico deve ser estocado em temperatura de -4°C .

O Reagente de Cor é preparado com 2g de Ácido Tiobarbitúrico (TBA) disponibilizado dentro do kit pelo fabricante e deve também ser estocado entre 2 e 8°C . Foi colhido sangue venoso dos pacientes e imediatamente acondicionado em tubo contendo anticoagulante como EDTA, heparina ou citrato. Neste estudo foram utilizados tubos EDTA.

No laboratório o sangue foi centrifugado de $2000 \times g$ durante 15 minutos em temperatura de 4°C e foi pipetado o soro, substância sobrenadante de cor amarela. Para uso imediato o soro pode ser estocado em gelo. Se for usado mais tarde, manter estocado em freezer a -80°C . A amostra de soro estará bem estabilizada por um período de um mês quando estocado em freezer a -80°C .

Após a coleta do sangue e preparo das amostras de soro, as normas de procedimento de preparo dos reagentes e das amostras devem ser seguidas conforme descritas abaixo:

Preparo dos reagentes

1. Ácido Tiobarbitúrico (TBA) – está pronto para uso no preparo do Reagente de Cor. Um frasco é suficiente para 24 poços.
2. Ácido acético TBA – lentamente adicionar 40 mL de ácido acético TBA em 160 mL de água. Esta solução é utilizada para preparar o reagente de cor. É estável por

3 meses na temperatura ambiente. Um frasco de Ácido Acético TBA é suficiente para avaliar 96 poços.

3. Hidróxido de sódio TBA (10x) – diluir 20 mL de Hidróxido de sódio TBA com 180 mL de água. Esta solução de NaOH diluída é utilizada para preparar o reagente de cor. Esta mistura é estável por 3 meses em temperatura ambiente e é suficiente para avaliar 96 poços. Estocar esta solução em frasco de plástico apropriado para material corrosivo.

4. Padrão Malondialdeído (MDA) – está pronto para ser utilizado no preparo da curva-padrão. É suficiente para preparar 4 curvas padrões.

5. Solução SDS TBA – esta pronta para utilizar como suprimento. É suficiente para avaliar 96 poços.

6. Reagente de Cor – adicionar o frasco de TBA a um frasco de Becker contendo 25 mL da solução de ácido acético TBA diluído. Enxaguar o frasco de TBA com mais 25 mL de solução de ácido acético TBA diluído. Adicionar 50 mL de Hidróxido de sódio TBA diluído e misturar até que o TBA esteja completamente dissolvido. Esta quantidade é suficiente para avaliar 24 poços. A solução é estável por 24 horas.

Preparo das amostras

A possível fazer a estocagem do soro em freezer – 80°C por até 30 dias. Não precisa diluir o soro antes do ensaio.

Procedimentos do ensaio

1. Com exceção das amostras, todos os reagentes devem estar na temperatura ambiente antes de iniciar o ensaio.
2. A solução SDS, se armazenada no refrigerador deve ser retirada 1 hora antes do ensaio para atingir a temperatura ambiente. Aquecer rapidamente a solução SDS a 37°C para dissolver novamente precipitado SDS. A solução pode ser armazenada em temperatura ambiente.
3. O volume final do ensaio é 150µL em todos os poços.
4. O ensaio é realizado em temperatura ambiente.
5. Não é necessário usar todos os poços da placa de uma única vez.
6. As amostras e os controles devem ser armazenados a 4°C após o preparo para aumentar a sensibilidade e a reprodutibilidade.

Preparação da curva padrão

1. Diluir 250 μ L do padrão MDA (frasco nº 4) com 750 μ L de água para obter uma solução estoque de 125 μ M.
2. Identificar 8 tubos de vidro com as letras A até H. Adicionar a solução estoque MDA 125 μ M e água aos tubos conforme o quadro abaixo:

TESTE	MDA (125 μ M)	Água (μ L)	Concentração MDA (μ M)
A	0	1000	0
B	5	995	0,625
C	10	990	1,25
D	20	980	2,5
E	40	960	5
F	80	920	10
G	200	800	25
H	400	600	50

Ensaio

1. Adicionar 100 μ L da amostra e padrões em tubos apropriados de 5mL.
2. Adicionar 100 μ L da solução de SDS e levar ao vortex.
3. Adicionar 4mL do Reagente de Cor vigorosamente na parte inferior de cada tubo.
4. Tampar os vidros e colocá-los em espuma ou alguma outra forma que os mantenha de pé (erectos).
5. Colocar os vidros em água fervente e deixar ferver por uma hora.
6. Após uma hora retirar os tubos imediatamente da água fervente e colocá-los em bacia contendo gelo para parar a reação. Deixar os vidros incubados no gelo por 10 minutos.
7. Após 10 minutos centrifugar os tubos durante 10 minutos em 3000 rpm na temperatura de 4°C.
8. Os tubos permanecem estáveis em temperatura ambiente durante 30 minutos.
9. Carregar 150 μ L (em duplicata) de cada tubo para a placa
10. Ler a absorbância em 450 nm usando uma placa de leitura

Cálculos das Análises

1. Calcular a média da absorbância de cada padrão e de cada amostra.
2. Subtrair o valor da absorbância do Padrão A (0 μM) dele mesmo e de outros valores. Esta é a absorbância correta.
3. Plotar os valores corretos da absorbância (fazer a partir do segundo padrão B) de cada padrão como uma função da concentração de MDA.
4. Calcular os valores de MDA de cada amostra a partir da Curva Padrão.

$$\text{MDA } (\mu\text{M}) = [(\text{absorbância correta}) - \text{y-interceptado}/\text{declive}]$$

ANEXO G – Tradução da informação sobre o produto e técnicas laboratoriais específicas para determinação da Glutamina - Glutamine/Glutamate Determination Kit

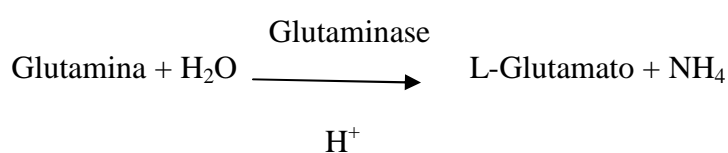
DETERMINAÇÃO DA GLUTAMINA – Ensaio SIGMA® Glutamina - Glutamine/Glutamate Determination Kit

A determinação da glutamina/glutamato foi realizada no plasma obtido do sangue venoso. Utilizou-se o ensaio da SIGMA® denominado Glutamine/Glutamate Determination Kit. Este kit é designado para medida espectrofotométrica da L-glutamina e ou L-glutamato em preparações líquidas.

O espectrofotômetro utilizado para leitura foi o BioPhotometer Plus analysis system da EPPENDORF®.

A determinação da L-glutamina é uma reação de dois passos: Reação (A) desaminação da L-glutamina em L-glutamato e Reação (B) dehidrogenação do L-glutamato em α -cetoglutarato acompanhado pela redução do NAD^+ em NADH. A conversão de NAD^+ em NADH é medida espectrofotometricamente e é proporcional a quantidade de glutamato que é oxidado, por isso a quantidade de glutamina convertida para glutamato nas amostras.

Reação (A) → Desaminação da glutamina



Reação (B) → dehidrogenação do glutamato e redução do NAD^+ + GLDH



Para determinação da L-glutamina em meio contendo L-glutamina e L-glutamato ou seus sais, o L-glutamato endógeno deve ser medido.

O kit Glutamine-Glutamate Determination pode ser estocado na temperatura entre 2 e 8°C. Os componentes são disponibilizados pelo fabricante SIGMA®. Quando reconstituídos podem ser estocados em freezer a -20°C e trabalhados em alíquotas.

Este ensaio requer um espectrofotômetro com capacidade de leitura de absorbância no comprimento de onda de 340 nm.

Preparação dos componentes

1. Reconstituir a L-Glutamina, L-Glutamato, NAD e ADP com volumes de água deionizada conforme indicado nos rótulos. Armazenar os componentes reconstituídos no freezer a -20°C em alíquotas de trabalho.
2. Preparar o Tampão Acetato com diluição de 1:10 em água e usar 5mL deste para dissolver a Glutaminase. Estocar em freezer a -20°C após a reconstituição das alíquotas de trabalho.
3. Adicionar o conteúdo inteiro de Hidrato de Hidrazina (3ml) em 57mL de Tampão Tris-EDTA e ajuste o pH para 9,0. Alíquotas menores podem ser preparadas usando a proporção de 1mL de hidrazina em 19mL de Tampão Tris-EDTA. Manter bem fechada a hidrazina não utilizado na temperatura entre 2 e 8°C.

DETERMINAÇÃO DA GLUTAMINA

Reação (A): Desaminação da Curva Padrão de Glutamina

1. Rotular tubos padrões de tamanho apropriados (0,1mL a 1,0mL). O volume total da reação em cada tubo deve ser igual a 1mL.
2. Dispensar os componentes como descrito abaixo:
 - a) Tampão Acetato (diluído): 0,2mL
 - b) Solução de Glutaminase: 0,1mL
 - c) 2mM de Glutamina Padrão e água:

μ Moles	Glutamina (mL)	H ₂ O (mL)
0	0*	0,7
0,1	0,05	0,65
0,2	0,1	0,6
0,3	0,15	0,55
0,4	0,2	0,5
0,5	0,25	0,45
0,6	0,3	0,4

0,7	0,35	0,35
0,8	0,4	0,3
0,9	0,45	0,25
1,0	0,5	0,2

* O tubo com 0mL de glutamina é o ensaio em branco.

Amostras teste sem glutamato

Nota: Amostras com uma concentração maior que 2mM L-glutamina devem ser diluídas a 2 mM ou menos. A quantidade de glutaminase usada pode ser insuficiente para fazer a desaminação de altos níveis de L-glutamina.

1. Etiquetar os tubos de glutamina. Se usar mais que um tubo, numerar todos os tubos para não haver confusão.
2. Adicionar Tampão Acetato e Glutaminase, como indicado acima pela curva padrão.
3. Adicionar amostra teste - 0,25ml e H₂O - 0,45ml. Se outros volumes de amostras são usados, o volume de água pode ser ajustado para produzir um volume total de reação de 1 ml.
4. Incubar todos os tubos na temperatura de 37°C durante 1 hora.

Amostras teste contendo L-glutamina e L-glutamato.

Para amostras contendo tanto L-glutamina como L-glutamato, o L-glutamato endógeno pode ser determinado e subtraído da concentração de L-glutamato derivado da desaminação da L-glutamina.

1. Etiquetar e rotular tubos em duplicata para cada amostra da seguinte forma: GLN + GLU para endógenos e GLU (L-glutamato derivado da L-glutamina).
2. Adicionar os componentes como indicado abaixo para os tubos marcados GLN + GLU e GLU.

3.		<u>GLN + GLU</u>	<u>GLU</u>
	a. Tampão Acetato	0,2 ml	0,2 ml
	b. Glutaminase	0,1 ml	-
	c. Amostra Teste	0,25 ml	0,25 ml
	d. H ₂ O	0,45 ml	0,55 ml

4. Se outros volumes de amostra foram usados, o volume de água pode ser ajustado para produzir um volume total de reação de 1 ml.
5. Incubar todos os tubos na temperatura de 37°C durante 1 hora.

Reação (B): Desidrogenação de Glutamato

1. Etiquetar cubetas STD, GLN, GLN + GLU OU GLU.
2. Colocar os componentes nos tubos apropriados como abaixo:

Componentes	STD	GLN	GLN + GLU	GLU
Tampão Tris-EDTA Hydrazine	1,0ml	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml
Solução de NAD	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml
Solução de ADP	0,01 ml	0,01 ml	0,01 ml	0,01 ml
A partir de Reação A				
Tubos Padrão (STD) (incluindo blank)	0,5ml	-	-	-
Tubos GLN	-	0,5ml	-	-
Tubos GLN+GLU	-	-	0,5ml	-
Tubos GLU	-	-	-	0,5ml
H2O	0,39 ml	0,39 ml	0,39 ml	0,39 ml

3. Colocar tampas nas cubetas e misturar por inversão.
4. Ler a absorbância a 340 nm para a obtenção de leitura de fundo.
5. Adicionar 0,02ml de L-GLDH, misturar por inversão e manter em temperatura ambiente por 40 minutos.
6. Após os 40 minutos, ler a absorbância a 340 nm ou até que a absorbância permaneça constante. Subtrair a absorbância de fundo a partir desta leitura de absorbância líquida.
7. Curva Padrão da Glutamina - Representar graficamente os padrões da L-glutamina usando μ moles *versus* absorbância. Concentrações desconhecidas de L-glutamina e L-glutamato podem ser determinadas a partir do gráfico.
8. Cálculo da L-glutamina na amostra teste: para determinar a concentração de L-glutamina na amostra, dividir o resultado observado por 0,25ml ou o volume da amostra que foi usado no teste. Multiplicar o resultado pela recíproca de quaisquer diluições que foram feitas (moles/ml = mmoles/L).
9. Para as amostras contendo tanto a L-glutamina como o L-glutamato, subtrair a concentração do L-glutamato endógeno do total da concentração de L-glutamato.

O resultado é a concentração de L-glutamato resultante da desaminação da L-glutamina.

DETERMINAÇÃO DA GLUTAMATO

Reação (B) pode ser usada sem a Reação (A) para determinar o L-glutamato ou e seus sais sem determinação de L-glutamina.

Construir uma Curva Padrão de Glutamato como demonstrada abaixo para deterrminar L-glutamato em amostras teste.

1. Etiquetar cubetas S (Padrão) ou T (Amostra Teste).
2. Dispensar componentes como abaixo:

Componentes	Quantidade
Tampão Tris-EDTA Hydrazine	1,0ml
Solução de NAD	0,1 ml
Solução de ADP	0,01 ml
Glutamato Padrão ou Amostras	Ver tabela abaixo
H ₂ O	Ver tabela abaixo

3. Tabela Padrão de Glutamato (GLU):

Moles	Glutamato (mL)	H ₂ O (mL)
0	0*	0,89
0,05	0,05	0,84
0,1	0,1	0,79
0,15	0,15	0,74
0,2	0,2	0,69
0,25	0,25	0,64
0,3	0,3	0,59
0,35	0,35	0,54
0,4	0,4	0,49
0,45	0,45	0,44
0,5	0,5	0,39

* O tubo com 0mL de L-glutamato é o ensaio em blanco.

4. Amostras teste:

Adicionar 0,25ml das amostras teste na placa do Glutamato Padrão e 640 μ l de H₂O. Se outros volumes de amostra foram usados, o volume de água pode ser ajustado para produzir um volume total de reação de 2 ml.

Nota: Amostras com L-glutamato em excesso de 1mM podem ser diluídas para 1mM ou menos para se enquadrar a Curva Padrão.

5. Colocar tampas nas cubetas e misturar por inversão.
6. Ler a absorbância a 340 nm para a obtenção de leitura de fundo.
7. Adicionar 0,02ml de L-GLDH, misturar por inversão e manter em temperatura ambiente.
8. Ler a absorbância a 340 nm após 40 minutos até absorbância permanecer constante. Subtrair a absorbância de fundo a partir desta leitura para a absorbância líquida.
9. Curva Padrão de Glutamato: Elaborar um gráfico L-glutamato utilizando padrões de absorbância *versus* mM e determinar valores desconhecidos a partir deste gráfico.
10. Cálculo do L-glutamato na amostra teste: Determinar a concentração de L-glutamato na amostra, dividir os resultados observados por 0,25 ml ou o volume da amostra que foi usada na reação. Multiplicar isso pelo recíproco de quaisquer das diluições que foram feitas. (Nota: moles/ml = mmoles/L).

Atenção: Esta é uma modificação do procedimento descrito por Lund (1986).