

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
FACULDADE DE MEDICINA

Carlos Milton de Coutinho Ottoni

**A SUPLEMENTAÇÃO COM GLUTAMINA EM NUTRIÇÃO  
PARENTERAL DE RECÉM-NASCIDOS PREMATUROS, COM PESO  
DE NASCIMENTO MENOR QUE 1500G, ADMITIDOS NA  
UNIDADE DE TERAPIA INTENSIVA NEONATAL; AVALIAÇÃO DE  
EFEITOS SOBRE A MORBIDADE E MORTALIDADE**

Belo Horizonte

2013

Carlos Milton de Coutinho Ottoni

**A SUPLEMENTAÇÃO COM GLUTAMINA EM NUTRIÇÃO  
PARENTERAL DE RECÉM-NASCIDOS PREMATUROS, COM PESO  
DE NASCIMENTO MENOR QUE 1500G, ADMITIDOS NA  
UNIDADE DE TERAPIA INTENSIVA NEONATAL; AVALIAÇÃO DE  
EFEITOS SOBRE A MORBIDADE E MORTALIDADE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação de Ciências da Saúde e Área de Concentração em Saúde da Criança e do Adolescente da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção de Grau de Doutor em Pediatria.

**Linha de pesquisa:**

**Orientador:** Prof. Francisco José Penna

**Co-Orientador:** Prof. Luciano Amédée Péret Filho

**Belo Horizonte**

**2013**

## **UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

Reitor: Prof. Ronaldo Tadêu Penna

Vice-Reitora: Prof<sup>a</sup> Heloísa Maria Murgel Starling

Pró-Reitor de Pós-Graduação: Prof. Jaime Arturo Ramirez

Pró-Reitor de Pesquisa: Prof. Carlos Alberto Pereira Tavares

## **FACULDADE DE MEDICINA**

**Diretor:** Prof. Francisco José Penna

**Vice-Diretor:** Prof. Tarcizo Afonso Nunes

**Chefe de Departamento de Pediatria:** Prof. Cleonice de Carvalho Coelho Mota

## **CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO**

**Coordenador do Centro de Pós-Graduação:** Prof. Carlos Faria Santos Amaral

**Sub-Coordenador do Centro de Pós-Graduação:** Prof. João Lúcio dos Santos

**Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde-Área de  
Concentração em saúde da Criança e do Adolescente:** Prof. Joel Alves

Lamounier

**Sub-Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde-Área  
de Concentração em saúde da Criança e do Adolescente:** Prof. Eduardo Araújo  
Oliveira

**Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde - Área de  
Concentração em saúde da Criança e do Adolescente:**

Prof. Joel Alves Lamounier

Prof. Eduardo Araújo Oliveira

Prof. Francisco José Penna

Prof. Ivani Nonato Silva

Prof. Marco Antonio Duarte

Prof. Ana Cristina Simões e Silva

Prof. Regina Lunardi Rocha

Prof. Lincoln Marcelo Silveira Freire

Discente: Rute Maria Velásquez Santos

## AGRADECIMENTOS

Muitas pessoas contribuíram, direta e indiretamente, para a realização deste trabalho e para que eu chegasse ao final desta etapa. Isto exigiu um tempo que foi roubado de outras importantes atividades.

Agradeço:

Aos professores Francisco José Penna e Luciano Amédée Péret Filho, que, além das sugestões, foram importantes pelo incentivo constante.

Aos colegas do Neocenter e, principalmente, a todos os médicos residentes que participaram do levantamento da casuística.

Ao farmacêutico Wander Campos, pela sua dedicação e organização, que tornou possível a avaliação confiável dos registros de nutrição parenteral dos pacientes da nossa casuística.

Aos meus filhos Luíza, Julia, Leonardo e Bernardo, pelo incentivo e paciência em me aguardar um pouco mais durante esta longa e solitária atividade de leitura e redação. A eles, dedico este trabalho.

## **FORMATO DE TESE**

De acordo com o regime do curso de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, esta tese se apresenta sob a forma de dois artigos: o primeiro é um artigo de revisão sobre o uso da glutamina em suporte nutricional; o segundo é um artigo original, uma coorte histórica, no qual se avaliaram os efeitos do uso da glutamina em nutrição parenteral sobre a morbimortalidade de uma população de recém-nascidos prematuros, com peso de nascimento menor que 1500 g, admitidos na Unidade de Terapia Intensiva Neonatal – Neocenter – da Maternidade Octaviano Neves.

## SUMÁRIO

### Parte I

ARTIGO DE REVISÃO: O PAPEL DA GLUTAMINA NO SUPORTE NUTRICIONAL-  
REVISÃO DA LITERATURA

1	INTRODUÇÃO .....	8
2	O PAPEL DA GLUTAMINA NA PROLIFERAÇÃO CELULAR E INTEGRIDADE DA MUCOSA INTESTINAL .....	9
3	O PAPEL ANTIOXIDANTE DA GLUTAMINA .....	13
4	A GLUTAMINA, OS ESTADOS HIPERCATABÓLICOS E O ESTRESSE CELULAR .....	16
5	A GLUTAMINA E O SISTEMA IMUNOLÓGICO .....	19
6	A GLUTAMINA E O BALANÇO NITROGENADO .....	21
7	O USO DA GLUTAMINA NA NITRIÇÃO DE RECÉM-NASCIDOS PREMATUROS .....	23
8	CONCLUSÃO .....	25
	REFERÊNCIAS .....	26

### Parte II

A SUPLEMENTAÇÃO COM GLUTAMINA EM NUTRIÇÃO PARENTERAL DE RECÉM-  
NASCIDOS PREMATUROS, COM PESO DE NASCIMENTO MENOR QUE 1500 G,  
ADMITIDOS NA UNIDADE DE TERAPIA INTENSIVA NEONATAL: AVALIAÇÃO DE  
EFEITOS SOBRE A MORBIDADE E MORTALIDADE.

9	INTRODUÇÃO .....	42
10	OBJETIVOS DO ESTUDO .....	44
11	MÉTODOS .....	45
12	DEFINIÇÕES .....	47
13	RESULTADOS .....	49
14	DISCUSSÃO .....	51
15	CONCLUSÕES .....	57
	REFERÊNCIAS .....	58

## Parte I

### ARTIGO DE REVISÃO: O PAPEL DA GLUTAMINA NO SUPORTE NUTRICIONAL- REVISÃO DA LITERATURA

#### RESUMO

Informações extraídas da literatura médica, desde o final da década de 80 até o presente momento, sugerem, fortemente, que a utilização de suplementação de glutamina pode trazer grandes benefícios, durante fases de imaturidade – recém nascido prematuro extremo – e situações clínicas críticas (pacientes com câncer, grandes queimados e trauma). Os vários estudos experimentais publicados são convincentes, quanto aos efeitos benéficos da glutamina, na manutenção da homeostase dos aminoácidos séricos, preservação dos músculos do organismo e conservação da integridade e função imunológica geral e da mucosa intestinal, desses pacientes críticos. O seu uso poderia garantir menor incidência de sepse tardia por translocação bacteriana, como também interferir na incidência de enterocolite necrosante entre os recém nascidos prematuros. Essa revisão é fruto da análise de muitos trabalhos, incluindo estudos experimentais e a revisão de conceitos sobre a fisiopatologia da desnutrição, em momentos críticos da doença aguda e da imaturidade típica do recém nascido prematuro extremo, com uma análise dos possíveis mecanismos da ação protetora da glutamina. Esses conhecimentos, obtidos dos estudos experimentais e suas conclusões, são confrontados com os resultados práticos conhecidos da utilização da glutamina em pacientes pertencentes a esses grupos de risco específico.

**Palavras-chave:** glutamina; nutrição parenteral e glutamina; prematuro extremo; enterocolite necrosante; enterocolite necrosante e glutamina; glutamina e paciente crítico.

## 1 INTRODUÇÃO

Os aminoácidos têm um papel crucial na síntese protéica, no controle das reações em cadeia que regulam o metabolismo energético, e são precursores de uma série de substratos fundamentais. A glutamina é o aminoácido mais abundante nos músculos, no plasma e no leite humano. É também essencial para a síntese de outros aminoácidos, proteínas, nucleotídeos e muitas moléculas com elevada função biológica. A glutamina é também o mais importante substrato para amoniogênese renal, a ureogênese e gliconeogênese hepática (1-4). É um aminoácido que tem sido, tradicionalmente, considerado não essencial, uma vez que, diante de maior necessidade, pode ser liberado das reservas musculares ou ser sintetizado a partir do ácido glutâmico, através da glutamina sintetase (5). Devido à sua instabilidade em solução, quando tende à decomposição espontânea em produtos que liberam amônia, e em vista da sua solubilidade limitada em meio aquoso, esse aminoácido vinha sendo excluído das prescrições padrões de nutrição parenteral (4,6). Na literatura médica recente, o papel da glutamina e as consequências da sua ausência na nutrição parenteral têm sido amplamente estudados, com utilização de métodos “in vitro”, animais de experimentação e seres humanos.



## 2 O PAPEL DA GLUTAMINA NA PROLIFERAÇÃO CELULAR E INTEGRIDADE DA MUCOSA INTESTINAL

Em 1956, Eagle e cols demonstraram que a glutamina era essencial para a proliferação celular em meios de cultura (7). A seguir, somente no final da década de 80 e durante a década de 90, despertou-se o interesse no estudo sobre o acréscimo da glutamina, entre outros aminoácidos, na nutrição parenteral padrão, quando passou a haver maior número de publicações científicas (8-15).

Estudos subsequentes apresentaram resultados controversos sobre a importância da glutamina suplementar. As primeiras conclusões divergentes apareceram em estudos com animais, que tentavam demonstrar a importância da glutamina no favorecimento do crescimento e preservação da integridade da mucosa intestinal. Babst e cols, em 1993, não perceberam diferenças microscópicas entre mucosas de camundongos que utilizaram dois esquemas diferentes de nutrição parenteral. Não detectaram atrofia da mucosa intestinal no grupo que recebeu nutrição parenteral com a solução padrão de aminoácidos, quando comparado com o grupo experimental, que recebeu suplementação com glutamina (16). Remillard e cols, em 1998, em estudo semelhante, realizado com porcos jovens divididos em dois grupos com diferentes esquemas de nutrição parenteral, também não encontraram diferenças histológicas nas mucosas intestinais dos animais de ambos os grupos (17).

Por outro lado, Li e cols, em 1994, demonstraram que havia diminuição da permeabilidade e preservação da mucosa jejunal em ratos que receberam glutamina em nutrição parenteral, quando comparados com um grupo que não recebeu (20). Bai e cols, em 1996, relataram efeito benéfico da glutamina na manutenção da integridade da mucosa intestinal de ratos que foram submetidos à quimioterapia e haviam recebido nutrição parenteral com suplementação com esse aminoácido (22). Outro trabalho, de 1998, realizado com camundongos, submetidos à hipotensão durante 30 minutos, com intenção de provocar isquemia intestinal, demonstrou que a nutrição parenteral enriquecida com glutamina foi mais eficaz e protetora em relação à integridade da mucosa intestinal, quando comparada ao esquema com solução

padrão de aminoácidos. No entanto, nesse estudo não ocorreu prevenção eficaz de translocação bacteriana no grupo de animais que recebeu suplementação com glutamina (19). Entretanto, Liu e cols, em 1998, demonstraram que o uso de glutamina em nutrição parenteral em grupos de ratos, além de manutenção de integridade de mucosa de jejuno, teve efeito protetor contra a translocação bacteriana (24). Mandir e Goodlad, em 1999, em estudo realizado com camundongos, demonstraram aumento da atividade mitótica em mucosa colônica dos ratos que receberam glutamina na nutrição parenteral, em comparação com os que não receberam. Por outro lado, nesse mesmo estudo, os autores não perceberam diferenças estruturais entre as mucosas do intestino delgado analisadas, entre os diversos grupos (18). Khan e cols, em 1999, analisaram as mucosas intestinais de ratos, submetidos aos diferentes esquemas de suporte nutricional e demonstraram que, entre os animais que receberam glutamina em nutrição parenteral, havia a presença de vilosidades mais elevadas, maior produção de muco e menor permeabilidade da mucosa, demonstrando que havia melhor integridade da mucosa intestinal do grupo experimental em relação ao controle (21). E por fim, Uzawa e cols, em 2000, realizaram estudo com porcos jovens submetidos a transplante de intestino, e concluíram que o grupo de animais recém-operados, que havia recebido nutrição com suplementação de glutamina, apresentou melhor estado de preservação da mucosa intestinal e menor taxa de translocação bacteriana, definida através de cultura de linfonodos mesentéricos, em comparação com o grupo que recebeu solução padrão de aminoácidos (23).

A controvérsia sobre o papel da glutamina na preservação da integridade da mucosa intestinal existe também em pesquisas que avaliaram o uso desse aminoácido por via enteral. Bertolo e cols, em 1999, não perceberam nenhuma vantagem, quando avaliaram o crescimento da mucosa intestinal de porcos novos, com dieta enteral rica em glutamina (25). Outro interessante estudo, realizado por Potsic e cols, em 2002, avaliou a importância da glutamina na preservação da integridade da mucosa intestinal, no qual quatro grupos de ratos jovens foram alimentados por via enteral, de diferentes maneiras. Um grupo recebeu solução de aminoácidos padrão por via enteral, sem inclusão de glutamina, e além disso, com o acréscimo de metionina-sulfoximina, que é um importante inibidor da glutamina-sintetase. Este grupo apresentou a atrofia da mucosa jejunal mais acentuada. O estudo sugere que a

indisponibilidade de glutamina, seja por falta de oferta exógena ou através da inibição da síntese com o uso da metionina-sulfoximina, compromete intensamente a preservação da estrutura da mucosa intestinal (26).

Estudos *in vitro*, usando células do intestino de seres humanos, mostraram evidências convincentes da ocorrência de utilização de glutamina pelos enterócitos. Ashy e Ardawi, em 1988, avaliaram o consumo de alguns substratos colocados em suspensão de enterócitos de intestino delgado de humanos, e perceberam aumento do gasto de oxigênio, quando foi acrescentada glutamina à suspensão daquela cultura de células, sugerindo que esse aminoácido foi consumido pelos enterócitos em cultura (27). Scheppach e cols, em 1994, constataram que os fragmentos de biópsia de mucosa do colo e íleo distal de seres humanos, que foram submetidos à colonoscopia de rotina, quando imersas em solução com glutamina, mantiveram a atividade de proliferação celular. Os autores compararam aquele material com os outros fragmentos conservados em NaCl 0,9%, sugerindo, mais uma vez, que a glutamina é importante substrato de consumo pelos colonócitos (28).

No entanto, os estudos *in vivo*, que avaliaram o efeito do acréscimo da glutamina em nutrição parenteral, sobre a mucosa intestinal de seres humanos, apresentaram resultados divergentes. Van der Hulst e cols, em 1993, realizaram estudo sobre a permeabilidade e análise estrutural da mucosa de intestino delgado de pacientes adultos submetidos a diferentes esquemas de nutrição parenteral. Demonstraram, através de microscopia óptica, ter havido a preservação da altura das vilosidades e que não houve alteração da permeabilidade da mucosa no grupo que utilizou suplementação com glutamina (13). Hulsewé e cols, em 2004, publicaram trabalho realizado com pacientes adultos desnutridos, demonstrando que o uso de glutamina não favoreceu a recuperação da estrutura da mucosa intestinal (30). Lima e cols, da Universidade Federal do Ceará, em 2007, demonstraram, em estudo com suplementação de glutamina por via enteral, em um grupo de 107 crianças em risco de desnutrição, melhor repercussão sobre a função de barreira intestinal, avaliado por meio de teste de permeabilidade (lactulose e manitol), entre as crianças que receberam glutamina na dieta (29). No entanto, apesar da necessidade de estudos mais amplos, persistiu uma tendência de utilização de glutamina em nutrição parenteral em pacientes que se submetiam ao transplante de medula, com o objetivo de preservar a integridade da mucosa intestinal e oral, e evitar translocação

bacteriana e infecções sistêmicas nesse grupo de pacientes imunossuprimidos (14,31,32,33,34,35). Outros estudos controlados e duplo-cegos, onde houve utilização de glutamina em nutrição parenteral em um dos grupos, demonstraram haver um melhor equilíbrio nitrogenado e aumento na taxa de síntese protéica, nos grupos que receberam glutamina (36-38).

### 3 O PAPEL ANTIOXIDANTE DA GLUTAMINA

Importantes produtos metabólicos são derivados da glutamina. O antioxidante glutathione, que tem ação protetora contra os radicais livres de oxigênio, é composto por glutamato, que é derivado da glutamina, além de cistina e glicina (1). Entre os mecanismos fisiopatológicos, que, possivelmente, estão envolvidos na lesão da mucosa intestinal, após a sequência da agressão de isquemia e reperfusão, pode ser citada a ação dos radicais livres de oxigênio, tais como o peróxido de hidrogênio, o superóxido e o óxido nítrico. Tais radicais são produzidos após a ativação do sistema xantina-oxidase, que ocorre durante a reperfusão da área que sofreu a isquemia. Concomitantemente, há também liberação de citocinas que, por sua vez, liberam mais metabólitos oxidantes, além de determinarem a migração de neutrófilos e macrófagos, que são produtores de radicais peróxido. Toda esta reação em cadeia causa maior extensão da lesão tecidual (39-41).

É provável, que a ação de antioxidantes naturais, tais como o glutathione, seja importante para atenuar a lesão que ocorre após o insulto de isquemia/reperfusão sobre o tecido intestinal (42). Tanto os radicais livres de oxigênio, principalmente o óxido nítrico, que quando formado em excesso, gera metabólitos oxidantes (peroxinitrito), como também as citocinas produzidas (NTF, PAF, IL1, IL6, IL8, IL10) parecem estar envolvidos no modelo fisiopatológico da enterocolite necrosante do prematuro (42-45). Meyer e cols, em 2006, na Escola Paulista de Medicina, detectaram, em estudo realizado com camundongos submetidos à hipóxia controlada, um aumento na produção de malondialdeído (produto final da peroxidação de lipídeos) na mucosa intestinal do grupo experimental. Encontraram também lesões microscópicas da mucosa, significando quebra de barreira intestinal dos animais do grupo experimental. Demonstraram, portanto, neste modelo, a possível participação de radicais livres de oxigênio na lesão da mucosa intestinal, em animais submetidos à hipóxia (46).

Sabe-se que, na fisiopatologia provável da enterocolite necrosante, o insulto de isquemia/reperfusão não age isoladamente, pois depende de contexto ambiental e individual (prematuidade, predisposição individual, microbiota formada, presença de alimento), e que não é essencial para desencadear o processo. No entanto, tudo

indica que, em muitas situações, este pode ser o fenômeno inicial e vem acompanhado da participação dos radicais livres de oxigênio (43-45,47). A partir dessas informações sobre a cadeia metabólica do glutathione, da ação e participação dos radicais livres de oxigênio e da cascata inflamatória, que ocorre após o insulto de isquemia/reperfusão intestinal, alguns estudos foram realizados tentando confirmar o papel protetor da glutamina que, indiretamente, teria uma função de proteção antioxidante.

Interessante estudo de 1992, que foi realizado com camundongos submetidos a doses elevadas e hepatotóxicas de acetaminofen (400mg/Kg), demonstrou que o uso prévio de glutamina na nutrição parenteral, durante cinco dias, determinava maior proteção dos hepatócitos, com menor elevação na taxa de aminotransferases, devido a provável acúmulo de glutathione (48). Wu e cols, em 2002, em estudo realizado com ratos jovens, encontraram menor grau de lesão em hepatócitos no grupo de animais que recebeu nutrição parenteral prolongada enriquecida com glutamina, quando comparada com o outro grupo, que recebeu solução de aminoácido padrão. Os autores sugeriram que a glutamina poderia ter papel protetor em relação ao quadro de colestase associado ao uso prolongado da nutrição parenteral (49). Babu e cols, em 2001, demonstraram, em pesquisa utilizando suspensão de hepatócitos viáveis de camundongos, que a exclusão de glutamina na solução, onde havia essas células, revertia a inibição do consumo de oxigênio, causada pela presença de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e óxido nítrico (ON). Deduziram que este efeito protetor ocorreu em virtude da síntese de glutathione realizada pelos hepatócitos viáveis (50). Foi demonstrado, em outro estudo com ratos, que as reservas hepáticas de glutathione são maiores em animais que receberam glutamina em nutrição parenteral, quando comparados com grupo que havia recebido solução padrão de aminoácidos sem glutamina (51). Tazuke e cols, em 2003, confirmaram o efeito protetor da glutamina para a mucosa intestinal, quando utilizada em nutrição parenteral de ratos jovens, que foram submetidos a isquemia/reperfusão intestinal. O grupo que recebeu glutamina suplementar manteve íntegra a mucosa intestinal (39).

Por outro lado, Eizaguirre e cols, não conseguiram demonstrar, em estudo realizado com ratos, que a glutamina na nutrição parenteral aumentasse a reserva de glutathione no fígado e nos rins dos animais, quando foram comparados os diversos grupos experimentais (52).

Singleton e cols, em 2005, demonstraram, em um estudo com animais apresentando sepse provocada, que a suplementação de glutamina inibe a produção de ON sintetase induzível (53).

#### 4 A GLUTAMINA, OS ESTADOS HIPERCATABÓLICOS E O ESTRESSE CELULAR

A resposta metabólica ao estresse sobre seres humanos, seja traumático seja infeccioso, é caracterizada por um estado hipercatabólico. Ocorre aumento da produção de lactato, aumento da gliconeogênese, diminuição da síntese de glicogênio e, por causa de aumento da resistência periférica à insulina, há uma diminuição da captação de glicose insulina-dependente (coração, músculos, tecido adiposo), com consequente hiperglicemia (54). Ocorre uma liberação acelerada de aminoácidos dos músculos e tecidos periféricos, e o concomitante aumento da captação hepática e de outras vísceras. Diante dessa situação, a glutamina, que é o aminoácido mais abundante e biodisponível, em circulação ou em reservas musculares, passa a ser intensamente consumido pelo fígado, pulmões e intestino, podendo ocorrer uma significativa diminuição do seu nível sérico e muscular (54-56).

Em crianças, este estado hipercatabólico acontece em tempo diferente daquele observado em adultos. É mais precoce e mais curto, ocorrendo nas primeiras 12 a 48 horas. Ao contrário, o paciente adulto apresenta uma fase imediata de estado hipodinâmico, que dura de um a dois dias. Após o segundo dia, ocorre uma aceleração rápida do metabolismo, instalando um quadro hipercatabólico, que dura por um período médio de quatro a sete dias, desde que não haja complicações infecciosas, que farão prolongar a situação (57).

Um estudo demonstrou que o uso de nutrição parenteral por sete a dez dias antes da cirurgia, em pacientes adultos desnutridos e com perda de mais de 15% de massa corporal, diminuiu as complicações no pós-operatório (56). No entanto, ainda não se encontra bem definido o valor da glutamina no pré e no pós-operatório de pacientes criticamente enfermos (56). Demonstrou-se haver, durante quadros sépticos provocados em animais de experimentação, uma maior utilização de glutamina pelo fígado, com maior extração das reservas naturais (57). O uso de nutrição parenteral com glutamina suplementar em ratos, que apresentavam quadro de toxemia induzida, preveniu a queda nos níveis da glutamina muscular e sérica, além de preservar a espessura da mucosa intestinal (59-61).



Durante a sepse, ou outro estado crítico hiperdinâmico, o fígado e o sistema imunológico tornam-se os maiores consumidores de glutamina, podendo exceder a capacidade de produção (57). Além disso, pensa-se que a glutamina seja importante fonte de energia e substrato para a síntese de nucleotídeos pelas células do sistema imunológico. Os pacientes com doença crítica apresentam diminuição significativa das funções dos linfócitos, monócitos, macrófagos e neutrófilos (62).

A depleção de glutamina está associada à diminuição de proteínas de choque térmico (HSP), também conhecidas como chaperonas celulares, que têm a função de, no interior do retículo endoplasmático, manter a homeostase da síntese de proteínas, com maior proteção das células que estão sob estresse (54). As células, sob estresse ou em hipertermia, apresentam aumento de atividade de síntese protéica no retículo endoplasmático, com maior chance de haver enovelamento errado destas proteínas que, se não corrigido pelas chaperonas, podem contribuir para a apoptose celular (54). Em estudo, no qual se elevou a oferta de glutamina, foi observado um aumento da produção de proteínas de choque térmico, com consequente prevenção da síndrome do desconforto respiratório agudo, em animais de experimentação, que apresentavam quadro de sepse provocada (63). Tem sido demonstrado, em experiências com animais, que a glutamina pode preservar o nível da função metabólica dos tecidos diante de um quadro de sepse ou agressão por isquemia e reperfusão (64-66). Este efeito parece estar associado ao aumento da expressão das proteínas de choque térmico. A glutamina pode atuar como ativadora do HSF-1 (fator de ativação do choque térmico), que inicia a transcrição para a produção das proteínas do choque térmico (64,67,68). Acredita-se que a produção aumentada de proteínas do choque térmico, induzida pela maior oferta de glutamina durante situações de estresse, como choque ou sepse, seja um dos mecanismos mais importantes de proteção celular, evitando a lesão intestinal, translocação bacteriana e limitando a resposta inflamatória sistêmica (69).

Acredita-se, atualmente, que a glutamina controla e limita a liberação de citocinas pró-inflamatórias, durante situações de estresse, atuando no sistema NFkB-IkBa (fator nuclear Kappa B-proteína inibitória Kappa B alfa) (63,69,70,71). NFkB é um fator de transcrição para a expressão dos genes relacionados à produção de citocinas. NFkB está retido no citoplasma de várias células e permanece estável

devido a sua ligação com a proteína inibitória I $\kappa$ B $\alpha$ . A liberação dos fatores NF $\kappa$ B se inicia pela ativação das I $\kappa$ B-quinases, através de vias metabólicas desencadeadas durante o estresse. As I $\kappa$ B-quinases são enzimas que destroem a proteína inibitória I $\kappa$ B $\alpha$ . Ocorre assim ativação dos fatores NF $\kappa$ B e se inicia a translocação para o interior dos núcleos, seguindo a transcrição e produção de citocinas. A glutamina presente limita esta ativação protegendo a degradação descontrolada da proteína I $\kappa$ B $\alpha$  com consequente limitação e equilíbrio na produção das citocinas (53,63,68,72).

Outro possível papel da glutamina na estabilização metabólica, em situações de estresse, diz respeito ao controle da hiperglicemia e da resistência periférica à insulina. Existem trabalhos demonstrando, que o uso da glutamina em nutrição parenteral, em pacientes adultos críticos, reduz a incidência de hiperglicemia com um menor consumo de insulina exógena (73,74).

## 5 A GLUTAMINA E O SISTEMA IMUNOLÓGICO

Alguns estudos sugerem que as células do sistema imunológico têm suas funções preservadas, quando em presença de glutamina. Esta diferença somente é percebida, após o paciente ter recebido nutrição parenteral enriquecida com glutamina por um período superior a cinco dias (75,76). Já foi demonstrado, *in vitro*, que a presença da glutamina é fundamental para que as células mononucleares, após estimulação específica, apresentem resposta positiva contra alguns antígenos (77,78). Alguns estudos experimentais em animais demonstraram que, durante o uso de glutamina em nutrição parenteral, com manutenção do seu nível sérico dentro de valores normais, ocorreu diminuição da permeabilidade da mucosa intestinal, elevação dos níveis de IL4, IL10 e IgA secretória, tanto no trato gastrointestinal quanto no respiratório. Houve preservação da população de linfócitos intraepiteliais na mucosa intestinal e manutenção da produção de muco, o que pode contribuir para a eficácia da barreira intestinal e dificultar a translocação bacteriana (21,36,59,79,80).

Lin e cols constataram, em pesquisa realizada em pacientes adultos, que foram submetidos a procedimento cirúrgico extenso, que o uso da glutamina em nutrição parenteral esteve associado à manutenção de uma taxa mais elevada de linfócitos T e CD4 dos pacientes. No entanto, o nível sérico da glutamina permaneceu preservado somente entre os pacientes com quadro clínico de menor gravidade (81). Fuentes-Orozco e cols, em 2004, observaram que havia um número total de linfócitos mais elevado, como também da subpopulação CD4 e CD8, nos pacientes que receberam nutrição parenteral enriquecida com glutamina, durante tratamento de peritonite secundária (82). Griffiths e cols, em 2002, acompanharam dois grupos de pacientes adultos críticos em UTI, em um total de 84 pacientes, que foram submetidos aos dois esquemas diferentes de nutrição parenteral. Constataram que o grupo experimental, que havia recebido glutamina suplementar, apresentou melhor resposta ao tratamento de infecção fúngica adquirida (*Candida sp*), com taxa de mortalidade significativamente menor, sugerindo haver melhores condições de resposta imunológica entre estes pacientes (83). Morlion e cols mostraram, em pacientes adultos pós-cirúrgicos, que o uso de glutamina na nutrição parenteral

esteve associado a um melhor balanço nitrogenado, maior taxa de linfócitos T e maior produção de cisteinil-leucotrienos pelos neutrófilos, quando foram examinados no 6º dia de pós-operatório. O nível de cisteinil-leucotrieno está diretamente relacionado à capacidade funcional dos neutrófilos. Deduziram, portanto, que os pacientes em uso de glutamina apresentaram aumento da atividade dos neutrófilos. O grupo que recebeu glutamina na nutrição parenteral apresentou, além disso, menor tempo de internação; 6,2 dias a menos, quando comparado com o grupo controle (84). Tais conclusões estimularam a realização de estudos em recém-nascidos prematuros, visando estabelecer prevenção de enterocolite necrosante e sepse primária, uma vez que eles tendem a apresentar menor capacidade de defesa em mucosa intestinal, com maior chance de translocação bacteriana (85-89).

O sistema imunológico, na sua complexa cadeia de proteção, é altamente dependente de adequada disponibilidade de aminoácidos, principalmente a glutamina, para a síntese de proteínas, polipeptídeos e outras moléculas de fundamental importância biológica. Em resumo, a glutamina tem se mostrado, a partir de estudos *in vitro*, em animais e *in vivo* com seres humanos, ser essencial para as seguintes funções (90):

- a) Proliferação de linfócitos;
- b) Produção de óxido nítrico em macrófagos e monócitos através da síntese de arginina;
- c) Prevenção da apoptose celular, inclusive das células de defesa;
- d) Aumento da capacidade de fagocitose dos macrófagos;
- e) Aumento da função bactericida dos neutrófilos;
- f) Aumento do potencial lítico das células NK.

## 6 A GLUTAMINA E O BALANÇO NITROGENADO

É consistente a informação na literatura médica, a partir de diversos trabalhos científicos realizados com pacientes adultos, que foram submetidos à cirurgia ou transplante de medula, que o balanço nitrogenado é melhor entre os pacientes que receberam nutrição parenteral com o acréscimo de glutamina, quando comparado com o balanço dos pacientes em uso de nutrição parenteral padrão. Além desta observação, há uma tendência de se destacar a diminuição do tempo de internação, principalmente dos pacientes cirúrgicos, em grande parte dos estudos que levantaram esta questão. Ainda existem, porém, muitos dados controversos na literatura médica, em pesquisas realizadas com adultos, quando se tentou investigar a associação benéfica do uso da glutamina em relação a outras variáveis que avaliaram a morbidade, principalmente a incidência de infecções secundárias e a mortalidade (73,81,91-97). Powell-Tuck e cols, em 1999, realizaram estudo duplo-cego sobre este tema, envolvendo 168 pacientes adultos admitidos em UTI, e concluíram que o uso da glutamina em nutrição parenteral não interferiu no tempo de internação hospitalar, na taxa de mortalidade e na taxa de infecção secundária (98). Um grupo de estudo italiano realizou uma ampla revisão da literatura sobre as pesquisas realizadas com grupos de pacientes adultos. A partir da análise de 121 trabalhos, esse grupo elegeu sete deles como estudo de nível I, e encontrou duas conclusões, que foram classificadas como evidências de classe A: o uso da nutrição parenteral com glutamina melhora o balanço nitrogenado e diminui o tempo de internação hospitalar (99).

O acréscimo de glutamina em solução de nutrição parenteral para recém nascidos prematuros, na forma de dipeptídeo L-alanil-glutamina, tem se mostrado absolutamente seguro, do ponto de vista de tolerância metabólica e isento de efeitos colaterais, até o momento detectados (2,3,88,100). Esta suplementação em nutrição está associada à manutenção de um nível mais elevado de glutamina plasmática, além de introduzir economia das reservas protéicas neste grupo de pequenos pacientes (101). Demonstrou-se que o uso precoce de solução padrão de aminoácidos em nutrição parenteral para recém nascidos prematuros bloqueia a proteólise muscular esperada nos primeiros dias de vida. No entanto, esta

interrupção na quebra protéica não se sustentou após o terceiro dia de nutrição parenteral. Quando se utilizou a suplementação com glutamina, foi possível prolongar este efeito (102).

## 7 O USO DA GLUTAMINA NA NITRIÇÃO DE RECÉM-NASCIDOS PREMATUROS

Diante de várias informações sobre o papel protetor da glutamina na preservação da estrutura da mucosa intestinal e do tecido imunológico, foram realizados estudos avaliando seus possíveis benefícios na prevenção de sepse neonatal primária e enterocolite necrosante (86,87,98,103,104). A maioria dos trabalhos não apresentou conclusões definitivas, devido ao tamanho amostral e diferenças metodológicas. No entanto, Vaughn e cols, que estudaram um grupo de 649 recém-nascidos prematuros com o uso de glutamina por via enteral, puderam observar uma melhora significativa no funcionamento intestinal no grupo experimental, como também menor incidência de hemorragia intraventricular grave e leucomalácia neste grupo. Este mesmo estudo não demonstrou nenhuma diferença na incidência de sepse neonatal primária entre os dois grupos (86).

Em 2004, foi publicado um estudo multicêntrico envolvendo a maior população até então estudada, ou seja, 1433 recém nascidos prematuros, com peso de nascimento entre 401 e 1000g. Os autores concluíram que a utilização de glutamina em nutrição parenteral não interferiu nos índices de mortalidade, sepse primária e no desenvolvimento de melhor tolerância gastrointestinal. Não encontraram também diferença, com significância estatística, na incidência de enterocolite necrosante entre dois grupos estudados (89).

O último estudo de metanálise da série “Cochrane review”, publicado em 2007, aborda seis estudos sobre a utilização de glutamina em recém nascidos prematuros, tanto por via enteral quanto parenteral, e concluiu que não existem evidências de que esta suplementação afeta risco de morte e de sepse neonatal primária. Os autores concluíram não ser mais relevante a realização de novas pesquisas sobre o uso de glutamina suplementar em recém nascidos prematuros. Porém, informaram que ainda havia um estudo em curso sobre o uso de glutamina em nutrição parenteral de neonatos, que apresentavam complicações cirúrgicas, inclusive enterocolite necrosante. O resultado dessa pesquisa, que se encontrava em curso, poderia encerrar a questão sobre o uso da glutamina em recém-nascidos prematuros (105).

No entanto, Neu e Li, em recente artigo de revisão sobre o uso de glutamina em recém-nascidos prematuros, afirmaram que esta ainda não é uma questão fechada. Segundo estes autores, os últimos conhecimentos a respeito dos mecanismos da ação da glutamina na proteção dos tecidos, na imunomodulação, capacidade antioxidante, diminuição da apoptose e aumento da produção das proteínas de choque térmico, elevam o interesse por maiores estudos em prematuros, que se encontram em maior risco de apresentar reações inflamatórias sistêmicas de origem gastrointestinal (106).

Outro artigo de revisão, recentemente publicado, suscita maiores discussões sobre o assunto. Os autores criticaram o estudo multicêntrico de Poindexter e cols, e chamaram a atenção para a possibilidade de que os resultados negativos tenham ocorrido em consequência de demora na suplementação de glutamina, doses diferentes empregadas, população muito heterogênea e, principalmente, que as variáveis alvo estudadas (mortalidade e sepse tardia) possam ter sofrido interferência de uma série de fatores não controlados, tornando impossível isolar o efeito da glutamina na nutrição parenteral. Afirmaram ainda que os estudos clínicos com o uso de glutamina enteral eram, até então, inconclusivos, embora alguns dados tenham sugerido melhora na função imunológica local (107).

No entanto, em pacientes adultos críticos e, ou, submetidos a transplante, ainda se mantém a tendência de realização de novos estudos. Duas comissões estrangeiras, “The Canadian Clinical Practice Guidelines for Nutrition Support e a European Society for Clinical Nutrition and Metabolism”, recomendaram, em diretrizes estabelecidas em 2005 e 2006, que a glutamina deve ser acrescentada às fórmulas enterais para os grandes queimados e pacientes politraumatizados (108,109). Em recente artigo de revisão, Bongers e cols, em 2007, levantaram ampla argumentação favorável ao uso da glutamina em doentes críticos. Afirmam que a glutamina parece afetar positivamente o sistema imunológico, a reserva antioxidante, o metabolismo da glicose, a sensibilidade à insulina e a produção das proteínas de choque térmico, que são de grande interesse para esses doentes. Além disso, sugerem haver necessidade de novos estudos e que também se investigue a ação da glutamina em diferentes doses (110).



## 8 CONCLUSÃO

Os conhecimentos extraídos, a partir de experimentos “in vitro” e “in vivo”, demonstraram o papel protetor da glutamina, tanto por via enteral como parenteral, em relação ao equilíbrio do balanço nitrogenado, preservação do sistema de defesa e integridade de algumas células e tecidos, durante o “stress” e os estados hipercatabólicos. Dentre as células, que sofrem intensamente nessas situações, destacam-se os enterócitos. Com esse objetivo protetor, a utilização da glutamina chega a ser preconizada em “Guidelines” estabelecidos para a terapia nutricional de pacientes adultos críticos (politraumatizados e grandes queimados).

No entanto, os estudos, que tentaram avaliar o seu papel protetor, para o recém-nascido prematuro extremo, não conseguiram demonstrar o benefício esperado na diminuição das taxas de sepse tardia ou enterocolite necrosante.

É possível, que nesse grupo específico de pacientes, onde existem muitas variáveis que também participam da fisiopatologia dessas doenças, a utilização isolada da glutamina não seja suficiente para interferir nos resultados finais dessas complicações. Existem críticas de que, nos diversos estudos publicados, que foram feitos em pacientes recém-nascidos prematuros, não tenha havido uma correta estratificação das amostras estudadas, devido a uma série de dificuldades inerentes a esse grupo de pacientes. Outros estudos serão necessários, com grupos desses pacientes com melhor estratificação, principalmente com melhor conhecimento de outros fatores intervenientes. E também, estudos que investiguem a utilização combinada da glutamina precoce (na primeira hora de vida) com outros aminoácidos e outros suplementos nutricionais, para melhor compreensão a respeito desse assunto.

## REFERÊNCIAS

- 1) Neu J, Shenoy V, Chkrabarti R. Glutamine nutrition and metabolism. Where do we go from here. *FAASEB J* 1996; 10:829-37.
- 2) Frust P. Old and new substrates in clinical nutrition. *J Nutr* 1998; 128:789-96.
- 3) Heird WC. Amino acids in pediatric and neonatal nutrition. *Curr Opin Nutr Metab Care* 1998; 1:73-78.
- 4) Frust P. New developments in glutamine delivery. *J Nutr* 2001; 131:2562s-68s.
- 5) Acker BAC, Hulsewe KWE, Wagenmakers AJM, Meyenfeldt MF, Soeters PB. Response of glutamine metabolism to glutamine-supplemented parenteral nutrition. *Am J Clin Nutr* 2000; 72:790-95
- 6) Wilmore DW. Glutamine and the gut. *Gastroenterology* 1994; 107:1885-86.
- 7) Eagle H, Oyama VI, Levy M, Horton CL, Fleischman R. The growth response of mammalian cells in tissue culture to L-glutamine and L-glutamic acid. *J Biol Chem* 1956; 218:607-16.
- 8) O'Dwyer ST, Smith RJ, Hwang TL, Wilmore DW. Maintenance of small bowel mucosa with glutamine enriched parenteral nutrition. *JPEN* 1989; 13:579-85.
- 9) Stehle P, Zander J, Mertes N, Albers S, Puchstein C, Lawin P, et al. Effect of parenteral glutamine peptide supplements on muscle glutamine loss nitrogen balance after major surgery. *Lancet* 1989; 1 (8646): 1085-86.
- 10) Hammarqvist F, Wernerman J, Ali R, Von der Decken A, Vinnars E. Addition of glutamine to total parenteral nutrition after elective abdominal surgery spares free glutamine in muscle, counteracts the fall in muscle protein synthesis, and improves nitrogen balance. *Ann Surg* 1989;209 (4):455-61.
- 11) Ziegler TR, Benfell K, Smith RJ, Young LS. Safety and metabolic effects of L-glutamine administration in humans. *JPEN* 1990; 14:137s-46s.
- 12) Scheltinga MR, Young LS, Benffel K, Bye RL, Ziegler TR, Santos AA, et al. Glutamine-enriched intravenous feedings attenuate extracellular fluid expansion after standard stress. *Ann Surg* 1991; 214 (4): 385-95.

- 13) Van der Hulst RR, Van Kreel BK, Von Meyenfeldt MF, Brummer RJ, Arends JW, Deutz NE, et al. Glutamine and the preservation of gut integrity. *The Lancet* 1993; 341: 1363-65.
- 14) Schloerb PR, Amare M. Total parenteral nutrition with glutamine in bone marrow transplantation and other clinical applications (a randomized, double-blind study). *JPEN* 1993; 17: 407-13.
- 15) Way CHV. Of glutamine and arginine. *JPEN* 2005; 29: 218-19.
- 16) Babst R, Horig H, Stehle P, Brand O, Filgueira, Marti W et al. Glutamine peptide-supplemented long-term total parenteral nutrition: effects on intracellular amino acid patterns, nitrogen economy, and tissue morphology in growing rats. *JPEN* 1993; 17: 566-74.
- 17) Remillard RL, Guerino F, Dudgeon DL, Yardley JH. Intravenous glutamine or limited enteral feedings in piglets: amelioration of small intestinal disuse atrophy. *J Nutr* 1998; 128: 2723s-26s.
- 18) Mandir N, Goodlad A. The effects of glutamine on intestinal epithelial cell proliferation in parenterally fed rats. *Gut* 1999; 44: 608-14.
- 19) Schroder J, Kahlke V, Fandrich F, Gebhardt H, Erichsen H, Zabel P, et al. Glutamine dipeptides-supplemented parenteral nutrition reverses gut mucosal structure and interleukin-6 release of rat intestinal mononuclear cells after hemorrhagic shock. *Shock* 1998; 10 (1): 26-31.
- 20) Li J, Henken BL, Suzuki K, Leroy HS. Glutamine prevents parenteral nutrition-induced increases in intestinal permeability. *JPEN* 1994; 18: 303-07.
- 21) Khan J, Liboshi Y, Cui L, Wasa M, Sando K, Takagi Y et al. Alanyl-glutamine-supplemented parenteral nutrition increases luminal mucus gel and decreases permeability in the small intestine. *JPEN* 1999; 23: 24-31.
- 22) Bai MX, Jian ZM, Liu YW, Wang WT, Li DM, Wilmore DW. Effects of alanyl-glutamine on gut barrier function. *Nutrition* 1996; 12: 793-96.
- 23) Yuzawa H, Azuma T, Tsutsumi R, Fujioka H, Furui J, Kanematsu T. Alanylglutamine-enriched total parenteral nutrition prevents bacterial translocation after small bowel transplantation in pigs. *Transpl. Proc* 2000; 32: 1662.
- 24) Liu YW, Bai MX, Jiang ZM. Effects of alanyl-glutamine on intestinal adaptation and bacterial translocation in rats after 60% intestinal resection. *Clin. Nutr* 1997; 16: 75-78.

- 25) Bertolo RFP, Penchr PB, Ball RO. A comparison of parenteral and enteral feeding in neonatal piglets including an assessment of the utilization of a glutamine-rich, pediatric elemental diet. *JPEN* 1999; 23: 47-55.
- 26) Potsic B, Holliday N, Lewis P, Samuelson D, DeMarco V, Neu J. Glutamine supplementation and derivation: effect on artificially reared rat small intestinal morphology. *Pediatr Res* 2002; 52: 430-36.
- 27) Ashy AA, Ardwai MSM. Glucose, glutamine and ketone-body metabolism in human enterocytes. *Metabolism* 1998; 37 (6): 602-09.
- 28) Scheppach W, Loges C, Bartram P, Christl SU, Richter F, Dusel G et al. Effect of free glutamine and alanyl-glutamine dipeptide on mucosal proliferation of the human ileum and colon. *Gastroenterology* 1994; 107:429-34.
- 29) Lima N L, Soares A M, Mota R M S, Monteiro HSA, Guerrant RL, Lima AA. Wasting and intestinal barrier function in children taking alanyl-glutamine-supplemented enteral formula. *J Ped Gastroenterology Nutr* 2007; 44 (3): 365-74.
- 30) Hulsewé KW, von Acker BD, Haameeteman W, van der Hurlst RR, Vainas T, Arends J W et al. Does glutamine-enriched parenteral nutrition really effect intestinal morphology and gut permeability? *Clin Nutr* 2004; 23 (5): 1217-25.
- 31) Muscaritoli M, Grieco G, Capria S, Iori AR, Rossi FF. Nutritional and metabolic support in patients undergoing bone marrow transplantation. *Am J Clin Nutr* 2002; 75 (2): 1183-90.
- 32) Ziegler TR. Glutamine supplementation in bone marrow transplantation. *Br J Nutr* 2002; 87 (suppl 1): s9-s15.
- 33) Murray SM, Pindoria S. Nutrition support for bone marrow transplant patients. *Cochrane Data Base Syst Rev* 2002; (2): CD002920.
- 34) Gomez CC, Castillo R, de Cos AI, Iglesias C, Martin MC, Aguado MJ, et al. Effects of parenteral glutamine in patients submitted to bone marrow transplantation. *Nutr Hosp* 2006; 21(1): 13-21.
- 35) Alpers DH. Glutamine: do the data support the cause for glutamine supplementation in humans? *Gastroenterology* 2006; 130 (suppl 1): s106-16.
- 36) Li J, Kudsk KA, Janu P, Renegar KB. Effect of glutamine-enriched total parent nutrition on small intestinal gut-associated lymphoid tissue and upper respiratory tract immunity. *Surgery* 1997; 121: 542-49.
- 37) Hammarqvist F, Wernerman J, Ali R, Von der Decken A, Vinars E. Addition of glutamine to total parenteral nutrition after elective abdominal surgery spaces free

glutamine in muscle, counteracts the fall in the muscle protein synthesis, and improves nitrogen balance. *Am.Surg* 1989; 209: 455-61.

38) Griffiths R D. Glutamine: establishing clinical indications. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 1999; 2: 77-82.

39) Tazuke Y, Wasa M, Shimisu Y, Wang HS, Okada A. Alanyl-glutamine-supplemented ischemia-reperfusion injury in rats. *JPEN* 2003; 27: 110-15.

40) Grotz MRW, Deitch EA, Ding J, Xu D, Huang Q, Regel G. Intestinal cytokine response after gut ischemia: role of gut barrier failure. *Ann Surg* 1999; 229 (4): 478-86.

41) Mallick IH, Yang W, Winslet MC, Seifalian AM. Ischemia-reperfusion injury of the intestine and protective strategies against injury. *Dig Dis Scie* 2004; 49 (9): 1359-77.

42) Kelly N, Friend K, Boyle P, Zhang ZR, Wong C, Hackman DJ, et al. The role of the glutathione antioxidant system in gut barrier failure in a rodent model of experimental necrotizing enterocolitis. *Surg* 2004; 136: 557-66.

43) Chan KL, Hui CWC, Chan KW, Fung PCW, Wo JY, et al. Revisiting ischemia and reperfusion injury as a possible cause of necrotizing enterocolitis: role of nitric oxide and superoxide dismutase. *J Pediatr Surg* 2002; 37 (6): 828-34.

44) Neu J. Neonatal necrotizing enterocolitis an update. *Acta Paediatr* 2005; 94 (suppl 449): 100-105.

45) Ford HR. Mechanism of nitric oxide-mediated intestinal barrier failure: insight into the pathogenesis of necrotizing enterocolitis. *J Pediatr Surg* 2006; 41: 294-99.

46) Meyer KF, Martins JL, Freitas Filho LG, Oliva MLV, Guerrant RL, Lima AA. Avaliação de um modelo experimental de enterocolite necrosante neonatal em ratos. *Acta Cir Bras* 2006; 21 (2): 113-18.

47) Gibbs K, Lin J, Holzman IR. Necrotizing enterocolitis: the state of the science. *Indian J pediatr* 2007; 74 (1): 67-72.

48) Hong RW, Rounds JD, Helton DS, Robinson MK, Wilmore DW. Glutamine preserves liver glutathione after lethal hepatic injury. *Ann Surg* 1992; (2) 215: 114-19.

49) Wu J, Hong L, Cai W, Tang Q, Shi C. Glutamine attenuates TPN-associated liver injury in infant rabbits. *Eur J Pediatr* 2007; 166 (6): 601-06.

50) Babu R, Eaton S, Drake DP, Spitz L, Pierro A. Glutamine and glutathione counteract the inhibitory effects of mediators of sepsis in neonatal hepatocytes. *J Pediatr Surg* 2001; 36 (2): 282-86.

- 51) Matilla B, Ortiz J, Gonzales P, Garcia-Diez F, Jorquera F, Cullebras JM, et al. Effects of parenteral nutrition supplemented with glutamine dipeptides on liver antioxidant and detoxification systems in rats. *Nutrition* 2000; 16; 125-28.
- 52) Eizaguirre I, Aldamiz L, Aldazábal P, Garcia N, Asensio AB, Barchiller P, et al. Tissue antioxidant capacity and bacterial translocation under parenteral nutrition. *Pediatr Surg int* 2001; 17: 280-83.
- 53) Singleton KD, Beckey VE, Wischmeyer PE. Glutamine prevents action of NF-(Kappa) B and stress kinase pathways, attenuates inflammatory cytokine release, and prevents acute respiratory distress syndrome (ARDS) following sepsis. *Shock* 2005; 24 (6): 583-89.
- 54) Powell-Tuck J. Nutritional interventions in critical illness. *Proc Nutr Soc* 2007, 66(1): 16-24.
- 55) Hammarqvist F, Wernerman J, Von der Deken A, Vinnars E. Alanyl-glutamine counteracts the depletion of free glutamine and the postoperative decline in protein synthesis in skeletal muscle. *Ann Surg* 1990; 23: 545-52.
- 56) Wilmore DW. Postoperative protein sparing. *World J Surg* 1999; 23:545-52.
- 57) Pierro A. Metabolism and nutritional support in the surgical neonate. *J Pediatr surg* 2002; 37 (6): 811-22.
- 58) Karinch AM, Pan M, Lin CM, Strange R, Souba WW. Glutamine metabolism in sepsis and infection. *J Nutr* 2001; 131 (9 suppl): 2535s-38s.
- 59) Lin MT, Saito H, Furukawa S, Fukushima R, Kazuhiko F, Lee PH, et al. Alanyl-glutamine enriched total parenteral nutrition improves protein metabolism more than branched chain amino acid-enriched total parenteral nutrition improves local, systemic, and remote organ response to intraperitoneal bacterial challenge. *JPEN* 2001; 25: 346-51.
- 60) Naka S, Saito H, Hashiguchi Y, Yojiro MD, Furukawa S, Inaba T, et al. Alanyl-glutamine enriched total parenteral nutrition improves protein metabolism more than branched chain amino acid-enriched total parenteral nutrition in protracted peritonitis. *J Trauma* 1997; 42 (2): 183-90.
- 61) Yeh SL, Yeh CL, Lin MT, Lo PN, Chen WJ. Effects of glutamine-supplemented total parenteral nutrition on cytokine production and T cell population in septic rats. *JPEN* 2001; 25 (5): 269-74.
- 62) Andrews FJ, Griffiths RD. Glutamine: essential for immune nutrition in the critically. *Br J Nutr* 2002; 87 suppl 1: s3-s8.

- 63) Wischmeyer PE. Glutamine: mode of action in critical illness. *Crit Care Med* 2007; 35 (9suppl.): s541-s44.
- 64) Singleton KD, Serkova N, Banerjee A, Meng X, Gamboni-Robertson F, Wischmeyer PE, et al. Glutamine attenuates endotoxin-induced lung metabolic dysfunction: potential role of enhanced heat shock protein 70. *Nutrition* 2005; 21: 214-23.
- 65) Singleton KD, Serkova N, Beckey VE, Wischmeyer PE. Glutamine attenuates lung injury and improves survival after sepsis: role of enhanced heat shock protein expression. *Crit care Med* 2005; 33: 1206-13.
- 66) Wischmeyer PE, Jayakar D, Williams U, Singleton KD, Riehm J, Bacha EA, et al. Single dose of glutamine enhances myocardial tissue metabolism, glutathione content, and improves myocardial function after ischemia-reperfusion injury. *JPEN* 2003; 27: 396-03.
- 67) Ziengler TR, Ogden LG, Singleton KD, Luo M, Fernandez-Estivariz C, Griffith DP, et al. Parenteral glutamine increases serum heat shock protein 70 in critically ill patients. *Intensive Care Med* 2005; 31: 1079-86.
- 68) Wischmeyer PE. Glutamine: role in gut protection in critical illness. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2006; 9: 607-12.
- 69) Wischmeyer PE. Can glutamine turn off the motor that drives systemic inflammation? *Crit Care Med* 2005, 31 (5): 1175-78.
- 70) Wischmeyer PE, Kahana M, Wolfson R, Ren H, Musch MM, Chang EB. Glutamine reduces cytokine release, organ damage, and mortality in a rat model of endotoxemia. *Shock* 2001; 16: 398-02.
- 71) Cœffier M, Marion R, Ducrotté P. Modulating effect of glutamine on IL-1beta induced cytokine production by human gut. *Clin Nutr* 2003; 22: 407-13.
- 72) Hubert-Buron A, Leblond J, Jacquot A, Ducrotté P, Déchellot P, Cœffier M. Glutamine pretreatment reduces IL-8 production in human intestinal epithelial cells by limiting I-Kappa-B-alpha ubiquitination. *J Nutr* 2006; 136: 1461-65.
- 73) Dechelotte P, Hasselmann M, Cynober L, Allaouchiche B, Cœffier M, Hecketsweiler B, et al. L-alanyl-L-glutamine dipeptide-supplemented total parenteral nutrition reduces infections complications and glucose intolerance in critically ill patients: the French controlled, randomized, double-blind, multicenter study. *Crit Care Med* 2006; 34 (3): 598-04.

- 74) Bakalar B, Duska F, Pacht J, Fric M, Otahal M, Pazout J, et al. Parenterally administered dipeptide alanyl-glutamine prevents worsening of insulin sensitivity in multiple trauma patients. *Crit Care Med* 2006; 34 (2): 381-86.
- 75) Van Leeuwen PAM. A minimum of 5 days of feeding. *Nutrition* 2002; 18:715.
- 76) Chioléro RL, Berger MM. Improving nutritional support in critically ill septic patients: glutamine alone or in combination? *Nutrition* 2002; 18: 723-24.
- 77) Chang WK, Yang KD, Shaio MF. Effect of glutamine on Th1 and Th2 cytokine responses of human peripheral blood mononuclear cells. *Clin Immunol* 1999; 93: 294-301.
- 78) DeWitt RC, Wu Y, Reneger KB, Kudsk K A. Glutamine-enriched total parenteral nutrition preserves respiratory immunity and improves survival to a *Pseudomonas pneumonia*. *J surg Res* 1999; 84: 13-18.
- 79) Kudsk K A. Current aspects of mucosal immunology and its influence by nutrition. *Am J Surg* 2002; 183: 390-98.
- 80) Furukawa S. Glutamine-enhanced bacterial killing by neutrophils from postoperative patients: background. *Nutrition* 1999;15: 439-42.
- 81) Lin MT, Kung SP, Yeh SL, Lin C, Lin TH, Chen KH, et al. The effect of glutamine-supplemented total parenteral nutrition on nitrogen economy depends on severity in surgical patients. *Clin Nutr* 2002;21 (3): 213-18.
- 82) Fuentes-Orozco C, Prado RA, Ojeda AG, Marquez HA, Cabrera-Pivaral C, Cervantes-Guevara G, et al. L-Alanyl-L-Glutamine-Supplemented parenteral nutrition improves infectious morbidity in secondary peritonitis. *Clin Nutr* 2002; 21 (3): 213-18.
- 83) Griffiths RD, Allen KD, Andrews FJ, Jones C. Infection, multiple organ failure, and survival in the intensive care unit: influence of glutamine-supplemented parenteral nutrition on acquired infection. *Nutrition* 2002; 18: 546-52.
- 84) Morlion BJ, Stehle P, Wachtler PM, Siedhoff HP, Koller M, König W, et al. Total parenteral double-blind, controlled study. *Ann Surg* 1998; 227 (2): 302-08.
- 85) Neu J, DeMarco V, Weiss M. Glutamine supplementation in low birth weight infants: mechanisms of action. *JPEN* 1999; 23: s49-s51.
- 86) Vaughn P, Thomas P, Clark R, Neu J. Enteral glutamine supplementation and morbidity in low weight infants. *J Pediatr* 2003;142 (6):662-68.
- 87) Thompson SW, McClure BG, Tubman TR. A randomized, controlled trial of parenteral glutamine in ill, very low birth weight neonates. *J Pediatr Gastroenterol Nut* 2003; 37: 550-53.



- 88) Lacey JM, Crouch JB, Benfell K, Ringer SA, Wilmore CK, Maguire D, et al. The effects of glutamine-supplemented parenteral nutrition in premature infants. *JPEN* 1996; 20: 74-80.
- 89) Poindexter BB, Ehrenkranz RA, Stoll BJ, Wright LL, Poole WK, Oh W, et al. Parenteral glutamine supplementation does not reduce the risk of mortality or late onset sepsis in extremely low birth weight infants. *Pediatrics* 2004; 113 (5): 1209-15.
- 90) Li P, Yin YL, Li D, Kim SW, Wu G. Review article. Amino acid and immune function. *Br J Nutr* 2007; 98: 237-52.
- 91) Merts N, Schulzki C, Goeters C, Winde G, Benzing S, Kuhn KS, et al. Cost containment through L-alanyl-L-glutamine supplement total parenteral nutrition after major abdominal surgery: a prospective randomized double-blind controlled study. *Clin Nutr* 2000; 19: 395-01.
- 92) MacBurney M, Young LS, Ziegler TR, Wilmore DW. A cost-evaluation of glutamine-supplemented parenteral nutrition in adult bone marrow transplant patients. *J Am Diet Assoc* 1994; 94 (11): 1263-66.
- 93) Griffiths RD. Outcome of critically ill patients after supplementation with glutamine. *Nutrition* 1997;13: 752-54.
- 94) Goeters C, Wenn A, Mertes N, Wempe C, Van Aken H, Stehle P, et al. Parenteral L-alanyl-L-glutamine improves 6-month outcome in critically ill patients. *Crit Care Med* 2002; 30 (9): 2032-37.
- 95) Umpleby AM, Carrol PV, Russel-Jones DL, Treacher DF, Jackson NC. Glutamine Supplementation and GH-IGF-I treatment in critically ill patients: effects on glutamine metabolism and protein balance. *Nutrition* 2002; 18 (2): 127-29.
- 96) Melis GC, Boelens PG, Van der Sijp JRM, Popovici T, De Bandt JP, et al. The feeding amino acids glutamine, citrulline and arginine, with the administration of Ala-Gln in preoperative patients. *Br J Nutr* 2005; 94: 19-26.
- 97) Zheng YM, Li F, Zhang MM, Wu XT. Glutamine dipeptide for parenteral nutrition in abdominal surgery: a meta-analysis of randomized controlled trials. *World J Gastroenterol* 2006; 12 (46): 7535-41.
- 98) Powell-Tuck JP, Jamieson CP, GE Bettany, Obeid O, Fawcett HV, Archer C, et al. A double blind, randomised, controlled trial of glutamine supplementation in parenteral nutrition. *Gut* 1999; 45: 82-88.

- 99) Landi D, De Gaudio AR, Paternostro E. Glutamina in nutrizione clinica: una revisione della letteratura utilizzando la metodica della "Evidence Based Medicine". *Rev Ital Nutr Parent Ent*. 1999; 17 (1): 28-38
- 100) Poindexter BB, Ehrenkranz R A, Stoll B J, Koch MA, Wright LL, Oh W, et al. Effect of parenteral glutamine supplementation on plasma amino acid concentrations in extremely low-birth-weight infants. *Am J Clin Nutr* 2003; 77: 737-43.
- 101) Des Robert C, Le Bacquer O, Piloquet h, Rozé J C, Darmaun D. Acute effects of intravenous glutamine supplementation on protein metabolism in very low birth weight infants: a stable isotope study. *Pediatr Res* 2002; 51: 87-93.
- 102) Kalhan SC, Edmison JM. Effect of intravenous amino acids on protein kinetics preterm infants. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2007; 10(1): 69-74.
- 103) Dallas MJ, Bowling D, Roiq JC, Auestad N, Neu J. Enteral supplementation for very low-birth-weight infants decreases hospital costs. *JPEN* 1998; 22 (6): 352-56.
- 104) Van den Berg A, Van Elburg RM, Westerbeek EA, Twisk JW, Fetter WP. Glutamine enriched enteral nutrition in very low birth weight infants and effects on feeding tolerance and infectious morbidity: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2005; 81 (6): 1397-404.
- 105) Tubman TRJ, Thompson SW, McGuire W. Glutamine supplementation to prevent morbidity and mortality in preterm infants. *The Cochrane Library* issue 2, 2007.
- 106) Neu J, Li N. Pathophysiology of glutamine and glutamate metabolism in premature infants. *Curr Opin Clin Nutr Metabol Care* 2007; 10: 75-9.
- 107) Parimi PS, Kalhan SC. Glutamine supplementation in the newborn infant. *Sem Fetal Neonat Med* 2007; 12: 19-25.
- 108) Dhaliwal R, Heyland DK. Nutrition and infection in the intensive care unit: what does the evidence show? *Curr Opin Crit Care* 2005; 11: 461-67.
- 109) Kreymann KG, Berger MM, Deutz NEP, Hiesmayr M, Jolliet P, Kazandjiev G, et al. ESPEN guidelines on enteral nutrition: intensive care. *Clin Nutr* 2006; 25: 210-23.
- 110) Bongers T, Griffiths RD, McArdle A. Exogenous glutamine: the clinical evidence. *Crit Care Med* 2007; 35(9): s545-s52.

## Parte II

**A SUPLEMENTAÇÃO COM GLUTAMINA EM NUTRIÇÃO PARENTERAL DE RECÉM NASCIDOS PREMATUROS, COM PESO DE NASCIMENTO MENOR QUE 1500 G, ADMITIDOS NA UNIDADE DE TERAPIA INTENSIVA NEONATAL: AVALIAÇÃO DE EFEITOS SOBRE A MORBIDADE E MORTALIDADE**

## **APRESENTAÇÃO**

Trabalho realizado na Unidade de Terapia Intensiva Neonatal da Maternidade Octaviano Neves-NEOCENTER. Levantamentos realizados em arquivos da farmácia central da unidade e no arquivo de prontuários médicos.

## NOTA EXPLICATIVA

Este trabalho original foi pensado, inicialmente, em ser realizado na forma de ensaio clínico. A glutamina suplementar já era usada em diversas unidades de terapia intensiva neonatal, inclusive no Neocenter (Unidade de Terapia Intensiva Neonatal da Maternidade Octaviano Neves), mas ainda sem a precisa definição de evidências de suas vantagens. No entanto, os estudos mostraram absoluta segurança em sua utilização em prematuros. Isto era importante por se tratar de um produto de alto custo. Em 2003 nosso projeto de pesquisa, na forma de um ensaio clínico randomizado e duplo-cego, enviado para avaliação da Câmara do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina da UFMG, foi aprovado. Em 2004, quando tentávamos viabilizá-lo, encontrávamos dificuldades para pagamento das contas de nutrição parenteral, pois alguns convênios médicos questionavam esta suplementação.

Então, foi publicado um trabalho realizado nos Estados Unidos, um amplo estudo multicêntrico, que não mostrou diferenças na incidência de sepse e mortalidade dos prematuros extremos, com peso de nascimento entre 400-1000g, que receberam glutamina em nutrição parenteral. Essa publicação (Poindexter BB et al, Pediatrics 2004) trouxe dificuldades na implementação do nosso trabalho, pois parecia, naquela época, fechar todas questões a respeito desse assunto. No entanto, como aquele estudo foi realizado com uma população de peso menor que 1000g, e já havíamos usado a glutamina em prematuros de peso até 1500g, achamos válido o relato dos nossos casos por meio de uma coorte histórica. O uso da glutamina no serviço se encontrava interrompido há algum tempo em virtude dessas dificuldades relatadas.

## RESUMO

**Objetivos:** Estudar os possíveis efeitos protetores do uso da glutamina em nutrição parenteral sobre a morbidade e a mortalidade de recém nascidos prematuros, medidos pela avaliação, em dois grupos de pacientes, através da avaliação dos índices de sepse tardia, enterocolite necrosante, tempo de dependência de nutrição parenteral e taxa de mortalidade.

**Métodos:** Os dados foram coletados, retrospectivamente, de fevereiro de 2001 a junho de 2002, utilizando prontuários médicos e arquivos de farmácia de nutrição parenteral. Foram incluídas todas as crianças admitidas na unidade de Terapia Intensiva Neonatal (Neocenter) da Maternidade Octaviano Neves, com peso de nascimento inferior a 1500g, divididas em grupo experimental e controle. No primeiro, os pacientes que receberam glutamina suplementar na nutrição parenteral, e no segundo, aqueles que não a receberam. Um total de 54 pacientes recebeu suplementação com glutamina nesse período. Este grupo foi comparado com um outro formado por 55 pacientes, que não haviam recebido glutamina no mesmo período e com as mesmas características de peso e idade gestacional. Para a comparação das variáveis contínuas com distribuição normal foi utilizado o teste t de Student (idade, peso de nascimento). A análise dos dados com distribuição assimétrica foi realizada através do teste Kruskal Wallis (Apgar no 5º minuto, tempo de uso de nutrição parenteral). E as variáveis categóricas foram comparadas através do teste do Qui-quadrado. Foi considerado o valor de 5% ( $p < 0,05$ ) como limiar de significância estatística.

**Resultados:** Foi incluído um total de 109 recém-nascidos prematuros: 54 que usaram glutamina na nutrição parenteral e 55 controles. Os dois grupos mostraram-se semelhantes quanto às seguintes características: sexo, idade gestacional, peso de nascimento, nota de Apgar em 5 minutos. O tempo médio de uso de nutrição parenteral no grupo que usou glutamina foi de  $23,30 \pm 9,62$  dias, e controle foi de  $24,04 \pm 12,10$  ( $p=0,97$ ). A incidência de enterocolite necrosante foi de 12,9% no grupo da glutamina e de 10,9% no controle ( $p=0,74$ ). A incidência de sepse tardia foi

de 61,1% no grupo da glutamina e de 61,8% no controle ( $p=0,94\%$ ). E, por fim, a taxa de óbito foi de 12,9% no grupo glutamina e de 7,3% no controle ( $p=0,32$ ).

Conclusões: Não se encontrou entre os dois grupos nenhuma diferença com significância estatística entre as variáveis estudadas. Neste estudo, não se encontrou nenhum efeito protetor do uso de glutamina em nutrição parenteral de recém-nascidos prematuros, em relação às incidências de enterocolite necrosante, sepse primária tardia e mortalidade. Não houve evidência de que a suplementação com glutamina na nutrição parenteral estivesse associada à maior tolerância alimentar e, conseqüentemente, menor tempo de uso de nutrição parenteral.

## ABSTRACT

**Objective:** The aim of this study was to investigate the possible effects of using glutamine in parenteral nutrition against premature neonate morbidity and mortality. Two groups were assessed for late sepsis rates, necrotizing enterocolitis, dependence time on parenteral nutrition and mortality rate.

**Method:** Retrospective data were collected from medical charts and parenteral nutrition pharmacy files for the period between February 2001 and June 2002. All of the children weighing below 1,500g at birth that were admitted into the Intensive Care Unit (Neocenter) of the Otaviano Neves Maternity Hospital were included in the study. Patients were placed in an experimental or a control group, as follows: patients that received, and patients that did not receive glutamine supplementation in parenteral nutrition. Fifty-four were treated with glutamine during the trial period and were compared with 55 patients of similar birth weight and gestational age that did not receive glutamine during the same period. Student's t test (age, birth weight) was used for comparing normally distributed continuous variables.

The Kruskal Wallis test (Apgar at 5 minutes, duration of parenteral nutrition) was used for analysing asymmetrically distributed data. The chi square test was used for comparing categorical values. The statistical significance threshold was 5% ( $p < 0,05$ ).

**Results:** There were 109 premature newborn babies in this study: 54 received glutamine in parenteral nutrition and 55 controls received glutamine-free parenteral nutrition. Both groups were similar according to the following characteristics: sex, gestational age, birth weight, and Apgar at 5 minutes. The mean duration of parenteral nutrition in the glutamine group was  $23.30 \pm 9,62$  days, and  $24.04 \pm 12.10$  in the control group ( $p=0.97$ ). The incidence of necrotizing enterocolitis was 12.9% in the glutamine group and 10.9% in the control group ( $p=0.74$ ). The incidence of late sepsis was 61.1% in the glutamine group and 61.8% in controls ( $p=0.94$ ). The death rate was 12.9% in the glutamine groups and 7.3% in the control group ( $p=0.32$ ).



Conclusion: There was no statistically significant difference between both groups for the variables that were investigated. In this study no protective effect against the incidence of necrotizing enterocolitis, late primary sepsis or mortality was demonstrated when using glutamine in the parenteral nutrition. There was no evidence that glutamine supplementation in parenteral nutrition was associated with increased food tolerance, and therefore less time using parenteral nutrition.

## 9 INTRODUÇÃO

A glutamina é o aminoácido livre mais abundante no plasma em estoques naturais mobilizáveis, tais como os músculos, onde constitui até 60% do seu peso. Trata-se, ainda, de produto básico para a síntese das purinas, pirimidinas e nucleotídeos. É, portanto, essencial para os tecidos que apresentam maior nível de replicação celular como as células da mucosa intestinal, os linfócitos e os macrófagos, e importante substrato para a síntese de antioxidante intracelular natural, o glutathione (3). Embora a glutamina não seja considerada um aminoácido essencial, pode se tornar essencial para recém nascidos prematuros de menor peso de nascimento, em situações de estresse. Esse grupo de pacientes apresenta limitação de reserva de glutamina e da capacidade de síntese e, em condições de aumento do consumo, poderá apresentar acentuada e rápida diminuição da glutamina sérica com as suas possíveis consequências (4-6).

Até recentemente, a nutrição parenteral padrão não incluía a glutamina, em virtude de limitações técnicas para processar e manter a solução, quando esse aminoácido era acrescentado (5). O uso da glutamina por via parenteral somente foi possível após obter a estabilização do aminoácido, na forma de L-alanil-L-glutamina (1)

O jejum e o uso de nutrição parenteral prolongados estão associados com o aparecimento da atrofia da mucosa intestinal, uma vez que a dieta enteral é o fator mais importante para a nutrição e a manutenção da integridade dessa mucosa (7,8). É possível que a depleção de glutamina do organismo e sua indisponibilidade sejam importantes fatores relacionados à atrofia da mucosa intestinal, com ruptura da barreira intestinal (1). Pode haver, em consequência dessa atrofia e quebra dos mecanismos de barreira intestinal, o aumento da frequência de translocação bacteriana intestinal (9,10,11).

Os recém-nascidos prematuros, submetidos a algumas situações de estresse são prováveis de apresentar ruptura da barreira intestinal e diminuição das funções de linfócitos e macrófagos in loco, com consequente translocação bacteriana. Este modelo fisiopatológico pode estar envolvido nos casos de sepse primária e enterocolite necrosante dos recém nascidos prematuros (10,11,12). É possível que a suplementação de glutamina na nutrição parenteral determine uma diminuição de translocações bacterianas a partir do intestino, como tem sido sugerido por alguns

estudos realizados com animais e com pacientes adultos criticamente enfermos (13-17).

No entanto, apesar das sugestões sobre as vantagens da glutamina parenteral a partir de trabalhos realizados em animais de experimentação e pacientes adultos doentes críticos, as conclusões sobre o seu benefício pela via parenteral ainda não haviam sido, até recentemente, bem definidas na faixa etária neonatal e, principalmente, em prematuros (3,18,19). O Neonatal Cochrane Review Group, em 2000, sugeriu, após um estudo de metanálise em que foram avaliados três trabalhos realizados com recém-nascidos prematuros, que apresentavam boa metodologia científica, sobre a necessidade de realização de mais pesquisas, com mais amostras e melhor planejamento, para que se pudesse chegar a uma conclusão (20).

Mesmo entre pacientes adultos, nos quais o uso da glutamina, em nutrição parenteral, foi amplamente estudada, existe a dúvida quanto ao benefício e vantagens dela advindas. Alguns autores, defensores do seu uso, concluíram que a glutamina em nutrição parenteral poderia, no mínimo, diminuir o tempo de internação hospitalar dos pacientes críticos após cirurgia de grande porte ou após transplante de medula (21-27). Outros autores, que criticaram a metodologia empregada em tais trabalhos, chegaram a questionar se o uso da glutamina em nutrição parenteral não estaria diante de tanta controvérsia e dúvida por estar mais ligada a interesse comercial do que ser, de fato, essencial ao bem-estar dos pacientes (28-31).

## 10 OBJETIVOS DO ESTUDO

Verificar os potenciais benefícios da suplementação de glutamina na nutrição parenteral prescrita para os recém nascidos prematuros, com peso de nascimento igual ou menor que 1500g, a partir da comparação de dois grupos. Um dos grupos admitido mais recentemente recebeu glutamina na nutrição parenteral. O outro grupo, mais antigo, não recebeu glutamina na nutrição parenteral, pois não fazia parte do protocolo da época.

Diante das hipóteses de que a glutamina melhora a função gastro-intestinal dos prematuros, com melhor tolerância à dieta enteral na fase inicial da vida extra-uterina, que aumenta a capacidade de defesa do trato intestinal com diminuição da taxa de sepse primária por translocação bacteriana, como também de enterocolite necrosante, os seguintes indicadores clínicos foram avaliados:

- prazo para atingir tolerância à dieta enteral plena;
- incidência de enterocolite necrosante;
- incidência de sepse tardia primária;
- taxa de óbito.

## 11 MÉTODOS

Este estudo foi realizado na unidade de terapia intensiva neonatal (Neocenter) da Maternidade Octaviano Neves, fazendo-se o levantamento de dados a partir de prontuários médicos do Neocenter do mesmo Hospital, com autorização da diretoria clínica da unidade.

Foram estudados recém nascidos prematuros com peso de nascimento menor ou igual a 1500g, admitidos na unidade de terapia intensiva neonatal entre fevereiro de 2001 a junho de 2002, a partir da avaliação de prontuários médicos. Nesse período foram admitidos 136 recém-nascidos prematuros com peso igual, ou menor, que 1500g, o que representou 35% do total de 386 internações. A partir de maio de 2001 iniciou-se o uso, de maneira irregular, de glutamina suplementar na nutrição parenteral dos recém-nascidos prematuros. O produto encontrava-se disponível para a nutrição parenteral de prematuros extremos. Os dados, para efeito de comparação, foram obtidos a partir da avaliação de dois grupos, identificados através de arquivo médico (prescrições, prontuários de evolução médica, arquivos da farmácia) como casos: experimental e controle. O grupo experimental recebeu glutamina suplementar em nutrição parenteral; o grupo controle havia recebido uma solução padrão de aminoácidos em nutrição parenteral, sem a suplementação de glutamina. Parte dos pacientes do grupo controle foram retirados do período quando se iniciou o uso da glutamina no serviço, e outra parte, de uma fase após a interrupção do seu uso na unidade do Neocenter. Foram incluídos todos os recém nascidos prematuros com peso de nascimento igual ou menor que 1500g e que haviam recebido nutrição parenteral por um prazo superior a sete dias. Entre os 136 recém nascidos prematuros admitidos naquela época, foram encontrados 62 pacientes que fizeram uso de glutamina em nutrição parenteral. Deste grupo, foram excluídos 8 pacientes: 2 que faleceram com menos de 7 dias após internação, e 6 que foram transferidos para outros serviços. Foram analisados, portanto, dados clínicos investigados dos 54 pacientes restantes, que haviam recebido suplementação com glutamina. O grupo controle foi obtido a partir dos seguintes critérios: recém nascidos prematuros com peso de nascimento igual ou menor que

1500g, admitidos dentro do período estudado, e que não receberam glutamina em nutrição parenteral.

A prescrição de glutamina seguiu os protocolos publicados de outros serviços, que usavam esta suplementação em nutrição parenteral em grupos especiais (recém-nascidos prematuros, pacientes cirúrgicos, pós-transplantes). A dose preconizada foi de 20% da dose total diária de aminoácidos. A dose inicial de aminoácidos prescrita era de 1,0 g/Kg/dia com aumentos subseqüentes de 0,5 g/Kg/dia, conforme as diretrizes de nutrição parenteral do serviço, na época do estudo. A dose na fase de nutrição parenteral total, que era atingida no quinto dia, foi de 3,0 g/Kg/dia nos dois grupos. Portanto, a dose de glutamina, quando se atingia a fase de nutrição parenteral total, foi de 0,6 g/Kg/dia. Foi usado o produto Dipeptiven® do laboratório Fresenius-Kabi, que se apresentava sob a forma de L-alanil-glutamina. Os pacientes que não tiveram a suplementação de glutamina receberam a forma padronizada de aminoácidos Pediamino® do laboratório B.Braw. Na época, a solução de nutrição parenteral vinha sendo preparada em setor especializado dentro da própria unidade. Foi, portanto, possível confrontar o arquivo da farmácia da unidade com o arquivo médico em relação à prescrição de glutamina, garantindo mais segurança das informações

De acordo com o objetivo do estudo, foram comparadas as seguintes variáveis, entre os dois grupos: tempo de uso de nutrição parenteral, incidência de sepse tardia, incidência de enterocolite e taxa de óbito.

## 12 DEFINIÇÕES

Sepse tardia confirmada: quando a hemocultura positiva estiver acompanhada de sinais clínicos de infecção e indicadores laboratoriais sugestivos, surgidos após 72 horas de vida.

Sepse tardia provável: quando houver sinais clínicos e indicadores laboratoriais sugestivos de infecção (alterações de leucócitos e PCR), que surgiram após 72 horas de vida, apesar de hemocultura negativa, seguida de resposta ao tratamento clínico, o qual foi mantido por um mínimo de sete dias, e após exclusão de outras ocorrências adversas não infecciosas, que poderiam explicar o evento (ex: hemorragia intraventricular espontânea do prematuro).

Enterocolite suspeita: ocorrência de pelo menos três das seguintes observações:

Distensão abdominal persistente por mais de 72 horas.

Resíduo gástrico aumentado

Presença de bile ou sangue em resíduo gástrico

Enterorragia

Sangue oculto persistente nas fezes

Sinais clínicos de sepse

Evidência radiológica de íleo paralítico funcional (distensão de alças)

Ter recebido tratamento clínico para o quadro, apesar da não confirmação radiológica ou cirúrgica.

Enterocolite confirmada: presença de pneumatoses, ou ar em veia porta nas radiografias de abdome em vigência de quadro clínico sugestivo, ou naqueles casos com confirmação cirúrgica.

Prazo de tolerância à dieta enteral plena: medida indireta através de contagem do tempo total, de uso de nutrição parenteral. Os pacientes prematuros recebiam nutrição parenteral até completar um volume de aporte de dieta enteral entre 80 a 100 ml/Kg/dia, conforme as diretrizes estabelecidas no serviço, naquela época. Em caso de retorno à nutrição parenteral, após um período com dieta enteral plena,

considerou-se a soma total de uso da nutrição parenteral. Esta situação ocorreu, principalmente, em casos de sepse e enterocolite.

Para comparar as variáveis contínuas com distribuição normal foi utilizado o teste t de student (idade gestacional, peso de nascimento). A análise dos dados com distribuição assimétrica foi realizada através do teste Kruskal Wallis (Apgar no 5<sup>o</sup> minuto de vida, tempo de uso de nutrição parenteral). As variáveis categóricas foram comparadas pelo teste do Qui-quadrado. Foi considerado o valor de 5% ( $p < 0,05$ ) como limiar de significância estatística. Para todos os testes citados utilizou-se o programa Epi-info 6,0.



## 13 RESULTADOS

Quando comparadas as características básicas principais dos grupos, que poderiam interferir nos resultados, tais como idade gestacional, peso de nascimento, Apgar de 5 minutos e sexo, não se encontraram diferenças com significância estatística (tabela 1).

Tabela 1. Características básicas dos grupos

Característica	Grupo Glutamina	Grupo Controle	P
N	54	55	
Sexo M/Total (%)	23/54 (42,6)	26/55 (47,3)	0,62
IG (semanas)	29,09±2,5	29,38±2,1	0,62
Peso Nascimento	1.079±0,269	1.099±0,279	0,59
Apgar 5 minutos	8,06±1,24	8,06±1,21	0,95

Para a avaliação do tempo de uso da nutrição parenteral, utilizaram-se dados de 50 pacientes do grupo glutamina e de 51 pacientes do grupo experimental. Houve perda de informações em quatro pacientes de cada grupo avaliado. O tempo médio de uso de nutrição parenteral foi de 23,30±9,62 dias para o grupo glutamina e de 24,04±12,10 dias para o grupo controle ( $p=0,97$  Kruskal Wallis) (Tabela 2).

Com relação as outras variáveis investigadas (óbito, sepse tardia e incidência de enterocolite), foi possível realizar a análise em todo o grupo. Ocorreram sete casos de enterocolite no grupo glutamina (7/54) e seis no grupo controle (6/55) (RR:1,19; 95% IC:0,43-3,31;  $p=0,74$ ) (Tabela 2). Ocorreram 33 casos de sepse tardia no grupo glutamina (33/54) e 34 casos no grupo controle (34/55) (RR:0,97; 95% IC:0,42-2,26;  $p=0,94$ ) (Tabela 2). Por fim, a taxa de óbito entre o grupo glutamina foi de 12,9% (7/54) e de 7,3% (4/55) no grupo controle (RR:1,78; 95% IC:0,55-5,74;  $p=0,32$ ) (Tabela 2).

Tabela 2. Resultados dos dados de morbimortalidade do uso de glutamina em Nutrição Parenteral em recém nascidos prematuros

	Glutamina	Controle	Total	RR	P
Tempo de NP (dias)	23,30±9,62	24,04±12,10			0,97
Enterocolite	7/54 (12,9%)	6/55 (10,9%)	13/109 (11,9%)	1,19(0,43-3,31)	0,74

Sepse tardia 33/54 (61,1%) 34/55 (61,8%) 67/109 (61,5%) 0,97(0,42-2,26) 0,94  
Óbito 7/54 (12,9%) 4/55 (7,3%) 11/109 (10,0%) 1,78(0,55-5,74) 0,32

## 14 DISCUSSÃO

A suplementação de glutamina em recém nascidos prematuros: vantagens, dúvidas e discussão

Apesar das sugestões sobre as vantagens da glutamina parenteral, a partir de trabalhos realizados em animais de experimentação e pacientes adultos doentes críticos, as conclusões sobre o seu benefício ainda não haviam sido bem definidas na faixa etária neonatal, principalmente em prematuros, que estão sujeitos à translocação bacteriana, sepse primária e enterocolite necrosante (3,18,19). O Neonatal Cochrane Review Group, no ano 2000, sugeriu, após um estudo de meta-análise em que foram avaliados três trabalhos com boa metodologia científica e realizados com grupos de recém nascidos prematuros, sobre a necessidade de mais pesquisas, com maiores amostras e melhor planejamento, para que se pudesse chegar a uma conclusão confiável (20).

Teoricamente, se a nutrição parenteral pudesse oferecer todos os substratos que conseguissem nutrir e manter a integridade da mucosa intestinal dos recém nascidos prematuros extremos e, também, preservar o seu sistema de defesa imunológico local, então deveria ser esperado:

- a) maior e mais rápida tolerância à dieta enteral;
- b) melhor curva de ganho de peso
- c) menor incidência de sepse primária, causada por germes que translocam a partir do trato intestinal;
- d) melhor função de barreira intestinal, com menos episódios de enterocolite necrosante (32-38).

Grande parte dos dados, extraídos de um período da literatura médica, alimentou a esperança e, ou, a dúvida de que a glutamina em nutrição parenteral apresentava algum potencial para desempenhar o papel protetor. Considerando que, ainda hoje, cerca de 5 a 10% dos recém-nascidos prematuros, com peso de nascimento menor que 1500g, desenvolvem enterocolite necrosante, serão valiosos os estudos que avaliem as estratégias de prevenção da doença (19,32,39,40-45).

Alguns estudos, com utilização de glutamina suplementar em nutrição parenteral, foram realizados no final da década de 90 e início de 2000, com o objetivo de avaliar os seus efeitos sobre as variáveis relacionadas à morbimortalidade de recém-nascidos prematuros. Todos foram inconclusivos, ou apresentaram resultados controversos, por envolverem amostras pequenas. Lacey e cols, em 1996, publicaram um estudo realizado com 44 recém nascidos prematuros com peso de nascimento menor que 1500g. Concluíram, com reservas, devido à pequena casuística, que havia a tendência de menor tempo de internação no grupo que recebeu suplementação com glutamina na nutrição parenteral (3).

Muitos estudos, no entanto, tendem a atribuir à glutamina um papel importante para melhorar o balanço protéico dos recém nascidos prematuros (3,18,46-48). Darmaun e cols, em 1997, estudaram 11 prematuros com peso abaixo de 1250g e constataram que eles conseguiram manter certo nível de produção endógena de glutamina (49). Des Roberts e cols, em 2002, estudando 13 recém nascidos prematuros com peso variando entre 820 e 1610g, concluíram que o grupo que recebeu suplementação com glutamina apresentou melhor balanço nitrogenado (18). Thompson e cols, em 2003, avaliaram os efeitos da glutamina sobre a morbimortalidade em um grupo de 35 recém nascidos prematuros. Notaram diferença na tolerância alimentar, pois o grupo que recebeu a suplementação com glutamina atingiu o volume pleno de dieta enteral mais precocemente (32). Vaughn e cols, em 2003, avaliaram, em estudo duplo-cego envolvendo 649 recém nascidos com peso de nascimento entre 500 e 1250g, os efeitos benéficos da glutamina por via enteral, não encontrando diferença na incidência de sepse primária entre os dois grupos, mas observaram melhor tolerância alimentar no grupo que recebeu glutamina (50). Todos os autores foram unânimes em sugerir a necessidade da realização de mais estudos e, que se ampliassem as amostras, para uma conclusão definitiva sobre o assunto.

Em 2001, um estudo de metanálise, no qual foram revistos três trabalhos realizados com recém nascidos prematuros, apresentou uma conclusão parcial: o uso de glutamina em nutrição parenteral não interferiu sobre tempo de internação, ganho de peso nem sobre o tempo para se atingir a dieta enteral plena. Ou seja, não houve interferência sobre as variáveis que avaliaram a morbidade (51).

Finalmente, em 2004, foi publicado um grande estudo multicêntrico, duplo-cego e randomizado, com a participação de 15 centros de terapia intensiva neonatal dos EUA, com uma amostra composta por 1433 recém nascidos com peso de nascimento entre 401 e 1000g (52). O estudo teve o objetivo de avaliar as repercussões do uso de glutamina em nutrição parenteral sobre a morbidade e mortalidade em um grupo de recém nascidos prematuros. Não se encontrou diferença significativa quanto à taxa de mortalidade: 124/721 (17%) e 127/72 (18%), respectivamente, para o grupo experimental e controle ( $p=0,18$ . RR:0,97, IC (95%) 0,78-1,21). Não se encontrou diferença entre as taxas de incidência de sepse tardia nos dois grupos: 301/721 (42%) no grupo experimental e 273/712 (38%) no grupo controle ( $p=0,13$ .RR:1.10, IC: (95%) 0,98-1,24). E, mais uma vez, não houve diferença significativa na incidência de enterocolite necrosante que foi de 69/721 (10%) e 68/712(10%), no grupo que recebeu glutamina e controle, respectivamente ( $p=0,99$ .RR:0,99 IC: (95%) 0,711-1,40) (52).

Quando comparamos nossos dados dessa coorte histórica, encontramos resultados semelhantes. A taxa de mortalidade encontrada no nosso trabalho foi um pouco menor; 12,9% e 7,3% para o grupo glutamina e controle respectivamente. Este resultado poderia ser explicado por termos incluído recém-nascidos com uma faixa de peso entre 1000 a 1500g, que apresentam melhor índice de sobrevivência. Tivemos uma incidência de sepse tardia mais elevada (em torno de 61% nos dois grupos, contra uma taxa entre 38 e 42% no estudo multicêntrico de Poindexter e cols, 2004). A diferença pode ser explicada pelo fato de, no referido trabalho, ter sido considerado como sepse somente aqueles casos que apresentaram com um teste microbiológico de cultura positiva, em sangue ou líquido. Nós consideramos os critérios clínicos de suspeição para o diagnóstico de sepse tardia, apesar de termos incluído somente os pacientes que haviam recebido um curso mínimo de sete dias de antibióticos. Por tratar-se de um critério diferente e mais liberal, pode ter contribuído para a elevação dos números reais. No entanto, tal possibilidade de erro esteve presente nos dois grupos, uma vez que não havia a preocupação da equipe em relação ao uso da glutamina em nutrição parenteral, no momento do diagnóstico de sepse primária. E, finalmente, a incidência de enterocolite foi bem próxima. No nosso trabalho encontramos incidência em torno de 10%. Não houve diferença, com significância estatística, entre o tempo de uso de nutrição parenteral nos dois

grupos. O diagnóstico de sepse tardia ou enterocolite necrosante eleva o tempo de utilização de nutrição parenteral, sem significar intolerância primária à dieta enteral. Mas a presença destes diagnósticos tem resultado em atraso no tempo para se atingir a dieta enteral plena. Uma vez que não houve diferenças estatísticas nas incidências de enterocolite e sepse tardia entre os dois grupos, pode-se deduzir que não houve interferência tendenciosa a favor de um dos grupos em prolongar o tempo de uso de nutrição parenteral, por causa dos diagnósticos.

Assim, é possível inferir que o tempo total de uso de nutrição parenteral está associado ao prazo gasto para o desenvolvimento da tolerância à dieta enteral plena. Ou seja, é possível que, entre os dois grupos avaliados no nosso estudo, não tenha havido diferença nos prazos para se atingir a dieta enteral plena. E, portanto, o uso da glutamina não interferiu no melhor funcionamento do trato gastrointestinal, nem no desenvolvimento de melhor tolerância à dieta enteral.

Os resultados encontrados no nosso estudo com essa coorte histórica estão de acordo com aqueles encontrados no grande estudo multicêntrico realizado nos EUA. Também não encontramos nenhuma diferença, com significância estatística, entre as variáveis investigadas entre os dois grupos (tempo de uso de nutrição parenteral, incidência de sepse tardia e enterocolite necrosante e taxa de óbito). No entanto, a nossa casuística é bem menor. Não podemos dizer que nossos resultados sejam conclusivos, devido à limitação encontrada no tamanho da amostra desse trabalho. Um estudo que detectasse uma diminuição de 33%, ou mais, na ocorrência de enterocolite, considerando uma incidência da doença em torno de 9% na população alvo, necessitaria de pelo menos 1275 indivíduos por grupo. Em uma outra simulação, considerando que a incidência da doença seja 7,5% e que estivéssemos interessados em detectar uma queda de 33%, com a introdução do fator de proteção, seria necessário um projeto que envolvesse pelo menos 1549 indivíduos em cada grupo. Visto termos utilizado uma amostragem pequena, por dificuldades inerentes, somente obteríamos um resultado sobre avaliação do efeito protetor da glutamina sobre a enterocolite, com a construção de um grupo muito grande e que exigiria a participação de muitos centros, maior do que o estudo de Poindexter e cols (52).

No entanto, no estudo multicêntrico americano fez-se um cálculo do tamanho amostral tendo como objetivo a detecção de redução de 20% nas taxas de mortalidade, que é atualmente em torno de 35%, para aquele grupo de prematuros. Ou seja, este estudo não visou inicialmente a avaliação do efeito protetor da glutamina sobre a incidência de enterocolite. Considerando que a incidência de enterocolite está em torno de 5 a 10% em prematuros menores de 1500g, aquele mesmo estudo necessitaria de amostragem bem maior para avaliar especificamente o efeito da glutamina sobre a incidência de enterocolite necrosante. Deveria utilizar, segundo nossos cálculos, de 1275 a 1550 indivíduos por cada grupo, ou seja, um total de 2500 a 3000 recém-nascidos prematuros envolvidos.

Nossa intenção foi trazer mais informações para a literatura e possibilitar que os nossos dados, sobre o possível efeito de proteção da glutamina, por via parenteral, em relação à enterocolite necrosante, pudessem ser usados em outro estudo de meta-análise.

Por fim, uma última publicação utilizando metanálise, da série “Cochrane Review” de 2007, avaliou seis estudos sobre o uso de glutamina em recém-nascidos prematuros. Foram analisadas três pesquisas com utilização de glutamina por via enteral e três com pacientes que receberam glutamina por via parenteral. Os autores concluíram que não havia nenhuma evidência de que o uso de glutamina, tanto por via parenteral como enteral, tinha afetado os índices de morbimortalidade do grupo de recém-nascidos prematuros extremos e desestimularam novos estudos sobre este tema (53).

No entanto, tal conclusão tem sido questionada por outros autores, em publicações mais recentes, argumentando que ainda existem muitas variáveis intervenientes entre recém nascidos prematuros, que não foram devidamente estudadas (54,55). Parimi e Kalhan, em 2007, criticaram que as doses de glutamina e que os esquemas de nutrição parenteral apresentavam grande divergência entre os estudos incluídos na metanálise (55). Bongers e cols, 2007, em artigo de revisão questionaram se um melhor efeito da glutamina, como protetor celular e da barreira intestinal, não estaria relacionado ao uso de uma maior dose. Sugeriram a realização de novos estudos

com padronização de esquemas para a definição de uma dose ideal para os seres humanos (56).

A maioria dos pacientes da nossa casuística iniciou a nutrição parenteral no segundo dia de vida e todos seguiram um esquema de aumento gradual de aminoácidos, conforme as diretrizes do serviço naquela época, de maneira que a dose total (3g/Kg/dia) foi atingida cinco dias após o início da prescrição. Assim a dose de 0,6g/Kg/dia de glutamina somente se estabeleceu a partir do sétimo dia de vida, em regra geral. Diante dos comentários críticos acima, questionamos se esse esquema de prescrição de glutamina em nutrição parenteral, usada na nossa casuística, não teria comprometido a observação do seu efeito protetor. Deverá ser considerada a possibilidade de espoliação mais intensa de glutamina, especificamente, entre os recém nascidos prematuros extremos nos primeiros dias de vida.

Em outras situações clínicas, como em pacientes pós-transplante de medula óssea, o valor da glutamina continua a ser investigado e os estudos a serem estimulados. Há uma tendência de se observar uma diminuição nas incidências de mucosite, infecções e do tempo de internação hospitalar (26,57,58). Observa-se, na literatura recente, um grande interesse em estudos sobre o papel da glutamina como substância imunomoduladora, antioxidante e de estabilização das células sob estresse em pacientes críticos, com várias linhas de pesquisa sendo estimuladas (56,60-63).



## 15 CONCLUSÕES

Neste estudo, realizado com um grupo de recém-nascidos prematuros admitidos na unidade de terapia intensiva da Maternidade Octaviano Neves (Neocenter), não se encontrou nenhuma diferença, com significância estatística, entre as variáveis analisadas nos dois grupos, controle e experimental. Não se encontrou nenhum efeito protetor do uso de glutamina em nutrição parenteral de recém-nascidos prematuros, em relação às incidências de enterocolite necrosante, sepse primária tardia, e mortalidade. Também não se encontrou nenhuma associação entre a suplementação com glutamina na nutrição parenteral e uma maior tolerância alimentar e, conseqüentemente, menor tempo de uso de nutrição parenteral.

## REFERÊNCIAS

- 1) Neu J, Shenoy V, Chakrabarti R. Glutamine nutrition and metabolism. Where do we go from here. *FAAASEB J* 1996; 10: 829-37.
- 2) Furst P. Old and new substrates in clinical nutrition. *J Nutr* 1998; 128: 789-96.
- 3) Lacey JM, Crouch JB, Benfell K, Ringer SA, Wilmore CK, Maguire D, et al. The effects of glutamine-supplemented parenteral nutrition in premature infants. *JPEN* 1996; 20: 74-80.
- 4) Acker BAC, Hulsewe KWE, Waagenmakers AJM, Meyenfeldt MF, Soeters PB. Response of glutamine metabolism to glutamine-supplemented parenteral nutrition. *Am J Clin Nutr* 2000;72:790-95.
- 5) Heird WC. Amino acids in pediatric and neonatal nutrition. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 1998; 1:73-78.
- 6) Wilmore DW. Glutamine and the gut. *Gastroenterology* 1994;107:1885-86.
- 7) Kudsk KA. Current aspects of mucosal immunology and its influence by nutrition. *Am J Surg* 2002; 183: 390-398.
- 8) Lara TM, Jacobs DO. Effect of critical illness and nutritional support on mucosal mass and function. *Clin Nutr* 1998; 17: 99-105.
- 9) Illing KA, Ryan CK, Sax HC, Rhodes J, Locke W, Sax HC. Total parenteral nutrition-induces changes in gut mucosal function: atrophy alone is not the issue. *Surgery* 1992; 112: 631-637.
- 10) Helton WS, Smith R, Hong RW. Are intestinal permeability, bacterial translocation and intestinal atrophy during TPN and enteral feeding related? *JPEN* 1991; 15:17.
- 11) Alverdy JC, Aoye E, Moss GS. Total parenteral nutrition promotes bacterial translocation from the gut. *Surgery* 1998; 1104:185-190.
- 12) Alexander J W. Bacterial translocation during enteral and parenteral nutrition. *Proc Nutr Soc* 1998; 57: 389-393.
- 13) Furukawa S. Glutamine-enhanced bacterial killing by neutrophils from postoperative patients: background. *Nutrition* 1999; 15:439-442.

- 14) Lin MT, Saito H, Furukawa S, Fukushima R, Kazuhiko F, Lee PH, et al. Alanyl-glutamine enriched total parenteral nutrition improves local, systemic, and remote organ response to intraperitoneal bacterial challenge. *JPEN* 2001; 25:346-351.
- 15) Lin MT, Kung P, Yeh L, Lin C, Lin TH, Chen KH, et al. The effect of glutamine-supplemented total parenteral nutrition on nitrogen economy depends on severity of diseases in surgical patients. *Clin Nutr* 2002; 21: 213-218.
- 16) Ikeda S, Zarzur BL, Johnson C D, Fukatsu K, Kudsk KA. Total parenteral nutrition supplementation with glutamine improves survival after gut ischemia/reperfusion. *JPEN* 2002; 26: 169-173.
- 17) Wischmeyer PE. Glutamine: role in gut protection in critical illness. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2006; 9: 607-12.
- 18) Des Robert C, Le Bacquer O, Piloquet H, Rozé J C, Darmaun D. Acute effects of intravenous glutamine supplementation on protein metabolism in very low birth weight infants: a stable isotope study. *Pediatr Res* 2002; 51: 87-93.
- 19) Neu J, DeMarco V, Weiss M. Glutamine supplementation in low-birth-weight infants mechanisms of action. *JPEN* 1999; 23:s49-s51.
- 20) Tubman T R, Thompson S W. Glutamine supplementation for preventing morbidity in preterm infants. *Cochrane Database of Systematic Reviews*.2000.
- 21) Tremel H, Kienle B, Weilemann LS, Stehle P, Furst P. Glutamine dipeptide-supplemented parenteral nutrition maintains intestinal function in the critically ill. *Gastroenterology* 1994; 107: 1595-1601.
- 22) Mertes N, Schulzki C, Goeters C, Winde G, Benzing S, Kuhn KS, et al. Cost containment through L-alanyl-glutamine supplemented total parenteral nutrition after major abdominal surgery: a prospective randomized double-blind controlled study. *Clin Nutr* 2000; 119:395-401.
- 23) Neri A, Mariani F, Piccolomini A, Testa M, Vuolo G, DiCosmo L. Glutamine-supplemented total parenteral nutrition in major abdominal surgery. *Nutrition* 2001; 17: 968-969.
- 24) Powell-Tuck JP, Jamieson CP, Bettany GE, Obeid O, Fawcett HV, Archer C, et al. A double blind, randomized, controlled trial of glutamine supplementation in parenteral nutrition. *Gut* 1999; 45: 82-88.
- 25) Schoerb PR, Skikne BS. Oral and parenteral glutamine in bone marrow transplantation: a randomized, double blind study. *JPEN* 1999; 23: 117-122.

- 26) Murray SM, Pindoria S. Nutrition support for bone marrow transplant patients. *Cochrane Data Base yst Rev.*2002;(2): CD002920.
- 27) Gomez CC, Castillo R, de Cos AI, Iglesias C, Martin MC, Aguado MJ, et al. Effects of parenteral glutamine in patients submitted to bone marrow transplantation. *Nutr Hosp* 2006; 21 (1): 13-21.
- 28) Buchman AL. Glutamine: commercially essential or conditionally essential? A critical appraisal of human data. *Am J Clin Nutr* 2001; 74: 25-32.
- 29) Sitges-serra A. Cost containment with glutamine dipeptide-supplemented TPN. *Clin Nutr* 2001; 20: 285-287.
- 30) Elia M. Glutamine in parenteral nutrition: more food for thought. *Gut* 1999;45:6-7.
- 31) Noble DW, Avenell A. Glutamine-containing parenteral nutrition: another piece in the jigsaw. *Crit Care Med* 2006; 34 (3): 893-94.
- 32) Thompson SW, McClure BG, Tubman TRT. A randomized, controlled trial of parenteral glutamine in ill, very low birth-weight neonates. *J Pediatr Gastroenterol Nut* 2003; 37: 550-53.
- 33) Mandir N, Goodlad A. The effects of glutamine on intestinal epithelial cell proliferation in parenterally fed rats. *Gut* 1999; 44: 608-614.
- 34) Bai MX, Jian ZM, Liu YW, Wang WT, Li DM, Wilmore DW. Effects of alanyl-glutamine on gut barrier function. *Nutrition* 1996;12:793-96.
- 35) Yuzawa H, Azuma T, Tsutsumi R, Fujioka H, Furui J, Kanematsu T, et al. Alanylglutamine-enriched total parenteral nutrition prevents bacterial translocation after small bowel transplantation in pigs. *Transpl Proc* 2000; 32:1662.
- 36) Liu YW, Bai Mx, Jiang ZM. Effects of alanyl-glutamine on intestinal adaptation and bacterial translocation in rats after 60% intestinal resection. *Clin.Nutr* 1997; 16:75-78.
- 37) Ashy AA, Ardwai MSM. Glucose, glutamine and Ketone-body metabolism in human enterocytes. *Metabolism* 1988; 37 (6): 602-609.
- 38) Van der Hulst RR, Van Kreel BK, Von Meyenfeldt MF, Brummer RJ, Arends JW, Deutz NE, et al. Glutamine and the preservation of gut integrity. *The Lancet* 1993; 341:1363-65.
- 39) Gibbs K,Lin J, Holzman IR. Necrotizing enterocolitis: the state of the science. *Indian J Pediatr* 2007;74(1):67-72.

- 40) Caffarelli C, Bernasconi S. Preventing necrotizing enterocolitis with probiotics. *The Lancet* 2007; 369:1578-80.
- 41) Chan KL, Hui CWC, Chan KW, Fung PCW, Wo JY, Tipoe G, et al. Revisiting ischemia and reperfusion injury as a possible cause of necrotizing enterocolitis: role of nitric oxide and superoxide dismutase. *J Pediatr Surg* 2002; 37(6): 828-34.
- 42) Neu J. Neonatal necrotizing enterocolitis: an update. *Acta Paediatr* 2005; 94 (suppl 449): 100-105.
- 43) Ford HR. Mechanism of nitric oxide-mediated intestinal barrier failure: insight into the pathogenesis of necrotizing enterocolitis. *J Pediatr Surg* 2006; 41:294-99.
- 44) Meyer KF, Martins JL, Freitas Filho LG, Oliva MLV, Patricio FR, Macedo M, et al. Avaliação de um modelo experimental de enterocolite necrosante neonatal em ratos. *Acta Cir Bras* 2006; 21 (2):113-18.
- 45) Remillard RL, Guerino F, Dudgeon DL, Yardley JH. Intravenous glutamine or limited enteral feedings in piglets: amelioration of small intestinal disuse atrophy. *J Nutr* 1998; 128: 2723s-2726s.
- 46) Pierro A. Metabolism and nutritional support in the surgical neonate. *J Pediatr Surg* 2002; 37(6): 811-22.
- 47) Poindexter BB, Ehrenkranz RA, Stoll BJ, Koch MA, Wright LL, Oh W, et al. Effect of parenteral glutamine supplementation on plasma amino acid concentrations in extremely low-birth-weight infants. *Am J Clin Nutr* 2003; 77: 737-43.
- 48) Kalhan SC, Edmison JM. Effect of intravenous amino acid on protein kinetics preterm infants. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2007; 10(1): 69-74.
- 49) Darmaun D, Roig JC, Auestad N, Sogor BK, Neu J. Glutamine metabolism in very low birth weight infants. *Pediatr Res* 1997;41(3):391-96.
- 50) Vaughn P, Thomas P, Clark R, Neu J. Enteral glutamine supplementation and morbidity in low birth weight infants. *J Pediatr* 2003;142 (6):662-68.
- 51) Tubman TR, Thompson SW. Glutamine supplementation for prevention of morbidity in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2001;(4):CD001457.
- 52) Poindexter BB, Ehrenkranz RA, Stoll BJ, Wright LL, Poole WK, Oh W, et al. Parenteral glutamine supplementation does not reduce the risk of mortality or late onset sepsis in extremely low birth weight infants. *Pediatrics* 2004; 113(5):1209-15.
- 53) Tubman TR, Thompson SW, McGuire W. Glutamine supplementation to prevent morbidity and mortality in preterm infants (Cochrane Review). *The Cochrane Library*, issue 2, 2007. Oxford.

- 54) Neu J, Li N. Pathophysiology of glutamine metabolism in premature infants. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2007; 10: 75-79.
- 55) Parimi PS, Kalhan SC. Glutamine supplementation in the newborn infant. *Semin fetal Neonat Med* 2007; 12:19-25.
- 56) Bongers T, Griffiths RD, McArdle A. Exogenous glutamine: the clinical evidence. *Crit Care Med* 2007; 35(9):s545-s52.
- 57) Alpers DH. Glutamine: do the data support the cause for glutamine supplementation in humans? *Gastroenterology* 2006; 130 (suppl 1): s106-16.
- 58) Storey B. The role of oral glutamine in pediatric bone marrow transplant. *J Pediatr Oncol Nurs* 2007; 24(1): 41-5.
- 59) Wischmeyer PE. Glutamine: mode of action in critical illness. *Crit Care Med* 2007; 35(9):s541-s44.
- 60) Ziegler TR, Ogden LG, Singleton KD, Luo M, Fernandez-Estivarez C, Griffith DP, et al. Parenteral glutamine increases serum heat shock protein 70 in critically ill patients. *Int Care Med* 2005; 31: 1079-86.
- 61) Powell-Tuck J. Nutritional interventions in critical illness. *Proc Nutr Soc* 2007;66:16-24.
- 62) Wischmeyer PE. Can glutamine turn off the motor that drives systemic inflammation? *Crit Care Med* 2005;33(5):1175-77.
- 63) Singleton KD, Beckey VE, Wischmeyer PE. Glutamine prevents activation of NF-(Kappa)B and stress kinase pathways, attenuates inflammatory cytokine release, and prevents acute respiratory distress syndrome (ARDS) following sepsis. *Shock* 2005; 24(6): 583-89.