

JULIANO ALVES FIGUEIREDO

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO NUTRICIONAL COM GLICINA E COM
GLUTAMINA NA CICATRIZAÇÃO COLÔNICA EM COELHOS**

BELO HORIZONTE - MINAS GERAIS - BRASIL

2007

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE MEDICINA
JULIANO ALVES FIGUEIREDO**

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO NUTRICIONAL COM GLICINA E COM
GLUTAMINA NA CICATRIZAÇÃO COLÔNICA EM COELHOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Cirurgia do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Andy Petroianu
Co-Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Isabel Toulson
Davisson Correia

BELO HORIZONTE - MINAS GERAIS - BRASIL

2007

Figueiredo, Juliano Alves
F475e Efeitos da suplementação nutricional com glicina e com glutamina na cicatrização colônica em coelhos/Juliano Alves Figueiredo. Belo Horizonte, 2007.
XV, 65f.
Dissertação.(mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Medicina.
Área de concentração: Cirurgia
Orientador: Andy Petroianu
Co-orientadora: Maria Isabel Toulson Davisson Correia
1.Anastomose cirúrgica/tendências 2.Colectomia 3.Glicina/uso terapêutico 4.Glutamina/uso terapêutico 5.Cicatrização de feridas/efeitos de drogas 6.Terapia nutricional 7.Resultado de tratamento
I.Título

NLM: WI 900
CDU: 616.348-089

FOLHA DE APROVAÇÃO

JULIANO ALVES FIGUEIREDO

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO NUTRICIONAL COM GLICINA E COM GLUTAMINA NA CICATRIZAÇÃO COLÔNICA EM COELHOS

Nível: Mestrado

Data da defesa: 12 de dezembro de 2007 .

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Cirurgia do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais.

Comissão Examinadora formada pelos Professores:

Prof. Dr. Bruno Zilberstein

Prof. Dr. Sérgio Alexandre da Conceição

Prof. Dr. João Batista de Rezende Neto

Prof. Dr. Andy Petroianu – Orientador

"Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina".

Cora Coralina
Escritora: 1889-1985

AGRADECIMENTOS – AUXÍLIOS INSTITUCIONAIS

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Reitor

Prof. Ronaldo Tadêu Pena

Pró-Reitor de Pós-Graduação

Prof. Jaime Arturo Ramirez

Pró-Reitor de Pesquisa

Prof. Carlos Alberto Pereira Tavares

FACULDADE DE MEDICINA

Diretor

Prof. Dr. Francisco José Penna

Coordenador do Centro de Pós-Graduação

Prof. Dr. Carlos Faria Santos Amaral

Chefe do Departamento de Cirurgia:

Prof. Dr. Walter Antônio Pereira

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia

Prof. Dr. Edson Samesima Tatsuo

Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia

Prof. Dr. Alcino Lázaro da Silva

Prof. Dr. Andy Petroianu

Prof. Dr. Edson Samesima Tatsuo

Prof. Dr. Marcelo Dias Sanches

Prof. Dr. Marco Antônio Gonçalves Rodrigues

Prof. Dr. Tarcizo Afonso Nunes

Representante discente: Juliano Alves Figueiredo

Gratidão aos meus pais, Luís de Figueiredo Silva e Maria Alves Figueiredo, aos meus irmãos Maria Luisa, Lucas e João Paulo, e à querida Sara, lapidários de minha alma, meus amores.

AGRADECIMENTOS

À CAPES - pelo auxílio financeiro durante o período de realização do mestrado.

À FUNDEP - pelo auxílio financeiro durante a realização da pesquisa.

À Novartis, pela disponibilidade do aminoácido glutamina.

À Ajinomoto, pela disponibilidade do aminoácido glicina.

Aos funcionários Sr. Marcelo Moreira de Jesus, Sr. Derlim Severiano de Paula e Sr. José Maia de Almeida, do Biotério da Faculdade de Medicina da UFMG, pelo cuidado com os animais e gratidão pelo convívio fraterno.

À nutricionista Ana Flávia Gontijo, pelo auxílio e boa vontade no preparo dos aminoácidos.

Aos funcionários da Biblioteca da Faculdade de Medicina da UFMG e, em especial, à Srta. Mariza Cristina Torres Tolim pela disponibilidade constante e ajuda no domínio dos bancos de dados científicos na Internet.

À Sra. Adriana Santos de Oliveira e a Sra. Élen Cristina de Jesus, funcionárias do Centro de Pós-Graduação da UFMG, que foram disponíveis, prestativas e atenciosas sempre que precisei e fizeram com que a minha vida de estudante ficasse bem mais fácil.

À Dra. Cristiana Buzelin Nunes, pela orientação, auxílio na interpretação das lâminas e fotografias.

Ao Grupo de Pesquisa Avanços em Medicina, por ter sido o berço de meu despertar para as Ciências e aos seus participantes pelo amistoso convívio.

Ao amigo João Castilho pelas fotografias dos animais e dos procedimentos cirúrgicos. À Bruna Ferrari por ter feito o desenho esquemático.

A Raphael de Oliveira Pessoa Silveira e Wagner Espeschit, pela colaboração na execução da pesquisa, pelo incentivo e amizade.

Ao amigo Dr. Leonardo Souza Vasconcelos, pelo auxílio com o material de laboratório.

Aos amigos Dr. Hilário Antônio Castro Júnior, Dr. André Rosseti Portela, que durante a residência médica cuidaram dos nossos pacientes da Santa Casa como se cuidassem de si mesmos.

Aos amigos Dr. Gustavo Kleinsorge, Dr. Eduardo Spechit, Dr. Daniel Santana, Dr. Guilherme Souza, Dr. Rafael Augusto e Dr. Roger Vieira, que durante o período de residência médica cuidaram com empenho dos nossos pacientes do Hospital da Baleia, já que não pude estar presente tanto quanto gostaria.

Ao amigo Marcelo Militão Abrantes, pelo auxílio na análise estatística.

Aos amigos da equipe de coloproctologia do Hospital Life Center, Dr. Fábio Lopes, Dr. Hélio Antônio, Dr. Ramon Pires, Dr. Antônio Hilário, Dra. Kanthia Arreguy, Dra. Luciana Costa, Dr. Fabrício Siluzio e Dra. Isabela Pessoa, obrigado pelo apoio e incentivo.

À Professora Maria Isabel Toulson Davisson Correia, pela colaboração no método da pesquisa e valiosa contribuição na redação desta tese.

ÍNDICE GERAL

AGRADECIMENTOS – AUXÍLIOS INSTITUCIONAIS	IV
AGRADECIMENTOS	V
ÍNDICE DAS TABELAS	X
ÍNDICE DAS FIGURAS	XII
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	XIV
1. RESUMO	1
2. ABSTRACT	3
3. INTRODUÇÃO	5
4. OBJETIVOS	8
5. RELEVÂNCIA	9
6. LITERATURA	10
6.1 Glicina	10
6.2 Glutamina	11
6.3 Anastomose Intestinal	13
6.4 Cicatrização	15
6.5 Pressão de ruptura anastomótica	18
7. MATERIAL E MÉTODO	20
7.1 Ética	20
7.2 Caracterização do estudo e dos animais	20
7.3 Distribuição dos animais e protocolo de pesquisa	21
7.4 Administração de suplementação com aminoácidos	22
7.5 Anestesia e Técnica Operatória	23
7.6 Cuidados pós-operatórios	26

7.7	Coleta de sangue para exame e morte dos animais	26
7.8	Medida da resistência anastomótica	26
7.9	Histologia	28
7.10	Avaliação estatística	31
8.	RESULTADOS	32
8.1	Peso dos animais	32
8.2	Albumina	33
8.3	Pressão de ruptura anastomótica	34
8.4	Morfologia	35
8.4.1	Macroscopia	35
8.4.2	Microscopia (Epitelização de mucosa)	35
8.5	Tecido conjuntivo de reparação (Fibroplasia)	37
8.6	Medida da área de cicatriz	40
9.	DISCUSSÃO	41
10.	CONCLUSÕES	48
11.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49
12.	ANEXOS	59

ÍNDICE DAS TABELAS

Tabela 1 - Valores da média e desvio padrão da média do peso, comparando cada grupo de coelhos antes e após seis dias da operação.	32
Tabela 2 - Valores da média e desvio padrão da média da albumina sérica, comparando-se cada grupo de coelhos antes da operação e após seis dias da operação.	33
Tabela 3 - Valores da média e desvio padrão da média da pressão de ruptura das anastomoses dos grupos de coelhos.	34
Tabela 4 - Número de coelhos por grupo que apresentou epitelização da mucosa, de acordo com sua intensidade.	37
Tabela 5 - Caracterização da fibroplasia, em ausente, pequena, moderada e grande intensidade. Comparação entre os grupos de coelhos.	38
Tabela 6 - Apresentação da média e desvio padrão da média da área de cicatriz, entre os grupos de coelhos.	40
Tabela A1 - Ração para coelho, componentes por quilograma do produto.	59
Tabela A2 - Medida da pressão de ruptura, epitelização da mucosa, intensidade de fibroplasia e dimensões da área de cicatriz, dos coelhos do Grupo 1.	60
Tabela A3 - Medida da pressão de ruptura, epitelização da mucosa, intensidade de fibroplasia e dimensões da área de cicatriz, dos coelhos do Grupo 2.	60
Tabela A4 - Medida de pressão de ruptura, epitelização da mucosa,	

intensidade de fibroplasia e dimensões da área de cicatriz, dos coelhos do Grupo 3.	61
Tabela A5 - Medida da pressão de ruptura, epitelização da mucosa, intensidade de fibroplasia e dimensões da área de cicatriz, dos coelhos do Grupo 4.	61
Tabela A6 - Medida de pressão de ruptura, epitelização da mucosa, intensidade de fibroplasia e dimensões da área de cicatriz, dos coelhos do Grupo 5.	62
Tabela A7 - Peso corporal e concentração de albumina sérica, dos coelhos do Grupo 1, no dia da operação e no sexto dia pós-operatório.	62
Tabela A8 - Peso corporal e concentração de albumina sérica, dos coelhos do Grupo 2, no dia da operação e no sexto dia pós-operatório.	63
Tabela A9 - Peso corporal e concentração de albumina sérica, dos coelhos do Grupo 3, no dia da operação e no sexto dia pós-operatório.	63
Tabela A10 - Peso corporal e concentração de albumina sérica, dos coelhos do Grupo 4, no dia da operação e no sexto dia pós-operatório.	64
Tabela A11 - Peso corporal e concentração de albumina sérica, dos coelhos do Grupo 5, no dia da operação e no sexto dia pós-operatório.	64

ÍNDICE DAS FIGURAS

Figura 1 - Administração da suplementação alimentar por gavagem.	23
Figura 2 - Punção da veia cava posterior , Coelho 1, Grupo 5.	24
Figura 3 - Identificação dos pontos de referência anatômicos para a ressecção colônica, Coelho 1, Grupo 1.	25
Figura 4 - Anastomose colônica seromuscular término-terminal com pontos separados, Coelho 1, Grupo 5.	25
Figura 5 - Desenho esquemático mostrando sistema de três vias, com insuflador de ar, coluna de mercúrio com régua milimetrada e coelho em decúbito dorsal.	27
Figura 6 - Escala milimetrada – unidade em milímetros de mercúrio – utilizada no tensiômetro para se medir a pressão de ruptura do cólon.	27
Figura 7 - Conexão entre o segmento proximal à anastomose e o sistema tubular para mensuração da pressão de ruptura.	28
Figura 8 - Fotomicrografia, ilustrando a histologia do cólon íntegro. De baixo para cima camada serosa, muscular longitudinal, camada muscular circular, submucosa e mucosa. Coelho 2, Grupo 1 (Hematoxilina e eosina - 50X).	30
Figura 9 – Aderências entre o ceco, a anastomose e alças de intestino delgado.	36
Figura 10 - Fístula anastomótica de cólon, Coelho 8, Grupo 5.	36
Figura 11 - Corte histológico mostra limites da área em cicatrização, interrupção da camada muscular e fio de seda. HE – 50 X.	39
Figura 12 - Células gigantes multinucleadas, tipo corpo estranho, na área	

de cicatrização. HE – 400X. 39

Figura A1: Fotomicrografia mostra corte histológico de cólon íntegro.

Tricrômio de Masson – 50X. 65

Figura A2: Fotomicrografia mostra corte histológico de cólon íntegro.

Sirius red – 50X. 65

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

dl	decilitros
DNA	ácido desoxirribonucléico
DPM	desvio padrão da média
d.p.o.	dia pós-operatório
e cols	e colaboradores
g	gramas
HE	hematoxilina e eosina
kg	quilogramas
ml	mililitros
mm	milímetros
mmHg	milímetros de mercúrio
n	número de animais em cada grupo
p	nível de significância estatística
P	pressão
r	raio
SNK	Student-Newman-Keuls
T	tensão
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
USP	Universidade de São Paulo
X	aumento de n vezes

1. RESUMO

O impacto de alguns nutrientes, como os aminoácidos, na cicatrização da anastomose colônica não está claro, apesar de muitos aspectos da fisiopatologia cicatricial do cólon já terem sido descritos. Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de dois aminoácidos, glicina e glutamina, na epitelização da mucosa colônica, tamanho da área de cicatriz, fibroplasia e resistência tênsil da anastomose intestinal, após retirada de 17 cm do cólon transverso e anastomose término-terminal com pontos separados. Quarenta e cinco coelhos adultos, com idade variando entre 24 e 28 semanas, do sexo masculino, com peso inicial médio de 2.362 gramas, foram distribuídos aleatoriamente em cinco grupos, de acordo com o tipo de alimentação. O estudo foi duplo desconhecido. Dois animais morreram em cada grupo por causas diversas. Os grupos de coelhos foram assim distribuídos:

- Grupo 1 - (n = 9) Coelhos que receberam suplementação alimentar com glutamina durante sete dias antes e cinco dias após a operação.
- Grupo 2 - (n = 9) Coelhos que receberam suplementação alimentar com glicina durante sete dias antes e cinco dias após a operação.
- Grupo 3 - (n = 9) Coelhos que receberam suplementação alimentar com glutamina durante cinco dias após a operação.
- Grupo 4 - (n = 9) Coelhos que receberam suplementação alimentar com glicina durante cinco dias após a operação.
- Grupo 5 - (n = 9) Coelhos que não receberam suplementação alimentar.

A resistência da anastomose foi avaliada por meio de ensaio para pressão de ruptura por insuflação de ar intraluminal. O Grupo 2 foi o único grupo que apresentou valores de ruptura superiores aos do Grupo 5 ($p < 0,05$). Não houve diferença entre os grupos quanto aos aspectos histológicos estudados.

Concluiu-se que a suplementação oral com glicina, no período pré e pós-operatório, aumenta a resistência tênsil anastomótica colônica após colectomia parcial em coelhos. A suplementação oral com glutamina não apresentou efeito detectável em anastomose colônica de coelhos.

2. ABSTRACT

The impact of some nutrients, such as amino-acids on the healing of colonic anastomoses is not clear, despite the many aspects of the pathophysiology of healing of the colon having been described. The aim of this study is to evaluate the effect of two amino-acids, glycine and glutamine, in the epithelialization of the colonic mucosa, size of the scar area, fibrous as well as the tensile strength of the intestinal anastomoses, after the removal of 17 cm of the colon and an end-to-end anastomoses with interrupted suture. Forty five male adult rabbits varying between 24 and 28 weeks of age with the starting average weight of 2,362 grams were randomly distributed into five groups, according to their respective type of feeding. Two animals died in each group due to different complications. The rabbits were divided into the following groups, according to the procedures performed on them:

- Group 1 - (n = 9) Rabbits that received supplemental feeding with glutamine for seven days before and five days after the operation.
- Group 2 - (n = 9) Rabbits that received supplemental feeding with glycine for seven days before and five days after the operation.
- Group 3 - (n = 9) Rabbits that received supplemental feeding with glutamine for five days after the operation.
- Group 4 - (n = 9) Rabbits that received supplemental feeding with glycine for five days after the operation.
- Group 5 - (n = 9) Rabbits that did not receive any supplemental feeding.

The resistance of the anastomoses was evaluated through the means of assay for pressure of rupture during intraluminal air insufflation. Group 2 was the only

group that presented rupture values above those of Grupo 5 ($p < 0.05$). There was no difference amongst the groups concerning the histological aspects.

It was concluded that the oral supplementation with glycine, in the pre-and postoperative periods increases the tensile strength of colonic anastomoses after partial colectomy in rabbits. The oral supplementation with glutamine did not present detectable effect on the colonic anastomoses in rabbits.

3. INTRODUÇÃO

A glicina é um aminoácido com estrutura molecular simples e apresenta diversos efeitos orgânicos. Essa substância foi usada em pesquisas experimentais como controle de outros aminoácidos, isso pode ser questionável já que suas ações ter efeito biológico e não ser inerte biologicamente¹. Evidenciou-se que a glicina tem papel neurotransmissor inibitório no sistema nervoso central e atua como moduladora na cascata inflamatória sistêmica e na microcirculação^{2,3,4,5,6}. A influência desse aminoácido como possível agente terapêutico, na resistência anastomótica do cólon, ainda não foi investigada.

A glutamina é um aminoácido não-essencial, sintetizado a partir de produtos comuns do metabolismo corporal. Em algumas situações, como trauma, pós-operatório de procedimentos grandes ou em presença de sepse, as necessidades metabólicas podem ultrapassar a capacidade de síntese do organismo⁷. Em tais circunstâncias, a suplementação alimentar com glutamina torna-se relevante. Os efeitos imunomoduladores que a glutamina exerce no organismo em situações de estresse e o seu efeito como substrato energético celular para aumentar a proliferação de enterócitos, colonócitos e monócitos⁷, fazem crer que esse aminoácido possa exercer um papel adjuvante na cicatrização intestinal^{8,9,10}. Nesse sentido, seria possível que, após ressecção de segmento de intestino grosso, a glutamina contribua para a cicatrização anastomótica.

Nutrição terapêutica, imunonutrição e nutrição farmacológica são termos adotados para expressar efeito de alguns nutrientes¹¹. Fatores que interferem no processo cicatricial motivaram muitas pesquisas. Nos dois últimos decênios,

reconheceu-se que a administração de alguns nutrientes, como os aminoácidos, em doses maiores que as necessidades alimentares diárias, atuam como agentes farmacológicos¹¹. Essas substâncias podem agir por si ou interagir com diversos medicamentos.

A anastomose intestinal recebe a atenção de muitos pesquisadores que têm a intenção de diminuir o índice de complicações da reconstrução do trânsito intestinal. A fístula anastomótica permanece como principal causa de morbidade e mortalidade após ressecção intestinal¹² em uma incidência que varia de 0,1% a 30%¹³, dependendo de múltiplos fatores. A mortalidade após a ressecção colorretal é maior quando existe deiscência da anastomose (22%) do que quando não há complicação (7%)¹³. Para compreender-se melhor essa complicação e eventualmente atuar para preveni-la, a investigação de vários aspectos ligados à cicatrização anastomótica vêm sendo estudados. Entre os agentes investigados destacam-se a técnica cirúrgica, materiais de sutura, número de camadas envolvidas na sutura, tipo de sutura, invertida ou evertida; uso de grampeadores mecânicos ou anéis biofragmentáveis; além de fatores locais e sistêmicos envolvidos na cicatrização intestinal¹³.

A cicatrização dos tecidos baseia-se em complexa seqüência de eventos, que vão do trauma inicial à reparação da lesão. De especial interesse no processo de cicatrização estão os fibroblastos, que são a maior fonte de matriz protéica envolvida na cicatrização tecidual¹⁴. Durante a síntese do colágeno, a prolina é incorporada à cadeia polipeptídica inicial, para transformar-se em hidroxiprolina¹⁵. O conteúdo de colágeno na anastomose intestinal tem sido determinado pela medida de hidroxiprolina. No entanto, os resultados de diversos trabalhos mostram medidas muito heterogêneas, como microgramas de

hidroxiprolina por grama de tecido ou microgramas de hidroxiprolina por área de anastomose¹². A diversidade de respostas, quando utilizado esse método, questiona a sua real utilidade¹². A coloração com hematoxilina e eosina é uma alternativa para avaliação de fibroplasia e da epitelização da camada mucosa^{8,13,14}. A coloração com *Sirius red*, avaliada sob luz polarizada, tem auxiliado na diferenciação entre os colágenos novo e antigo⁸.

Um dos aspectos mais importantes da cicatrização refere-se às propriedades mecânicas do tecido de reparação, que deve oferecer a resistência necessária para não se romper ao ser submetido às tensões normais do organismo. A medida da pressão de insuflação de ar ou água no lúmen intestinal é um dos métodos de avaliação da resistência da anastomose intestinal utilizado em pesquisas experimentais^{12,13,14,15}, embora essa resistência também possa ser avaliada por meio de tração das extremidades (força de ruptura)¹⁶. Esses dois métodos determinam, de modo diferente, a integridade da anastomose durante o processo cicatricial.

No presente estudo usou-se o método de pressão de insuflação de ar, já utilizado para avaliar a resistência anastomótica em trabalhos desta linha de pesquisa^{14,15,17,18,19,20,21,22}.

4. OBJETIVOS

Verificar se a suplementação alimentar com glicina ou com glutamina, influencia na resistência da cicatriz anastomótica do cólon, no tamanho da área em cicatrização, na fibroplasia e na regeneração da mucosa colônica.

5. RELEVÂNCIA

O processo de cicatrização tecidual vem sendo estudado em uma linha de pesquisa há cerca de trinta anos. Vários aspectos da fisiologia e da fisiopatologia cicatricial já foram publicados^{14,15,17,18,19,23,24,25}.

As operações no intestino grosso são acompanhadas de complicações, por vezes graves, principalmente em decorrência de fístulas anastomóticas. Mesmo os paciente bem nutridos e submetidos a procedimentos tecnicamente bem feitos, estão sujeitos a distúrbios na anastomose. As operações associam-se a elevada morbidade quando ocorre cicatrização defeituosa e conseqüente fístula. Os avanços técnicos melhoraram os resultados das operações; no entanto, devem-se compreender os aspectos específicos do metabolismo do doente e da fisiopatologia da cicatrização.

Substratos nutricionais ou farmacológicos podem ser capazes de atuar como adjuvantes no processo cicatricial do intestino. Tal efeito estaria na dependência da via de administração, das doses e do período de fornecimento.

A glutamina foi avaliada em outros estudos, como adjuvante na cicatrização intestinal, com resultados conflitantes na literatura. No presente estudo, utilizou-se a ressecção intestinal que permitiu um tempo cirúrgico mais prolongado, uma simulação mais próxima das operações em humanos. Por outro lado, a glicina ainda não havia sido estudada como possível agente na cicatrização da anastomose intestinal.

Os resultados deste trabalho podem eventualmente contribuir para o conhecimento dos efeitos desses dois aminoácidos na cicatrização da anastomose colônica.

6. LITERATURA

6.1 Glicina

A glicina, $\text{CH}_2\text{-(NH}_2\text{)-COOH}$, é um aminoácido não-essencial, com estrutura molecular simples e baixa toxicidade, sintetizado por animais, vegetais e até microorganismos³. É conhecida como neurotransmissora com ação inibitória na medula espinhal³.

Por se acreditar que a glicina era metabolicamente inerte, utilizou-se esse aminoácido como controle isonitrogenado de outros aminoácidos^{1,2,8}. No entanto, publicações recentes têm mostrado amplos efeitos biológicos da glicina quando administrada em doses maiores^{1,5,6}. Seu efeito é mediado pela ligação a um receptor de glicina, localizado na membrana neuronal pós-sináptica³.

Efeitos citoprotetores produzidos pela glicina, *in vitro* e *in vivo*, mostraram seu impacto contra lesões hipóxicas dos túbulos renais e dos hepatócitos^{4,26}. A glicina reduziu a mortalidade de ratos expostos a endotoxinas e diminuiu concomitantemente os níveis plasmáticos do fator de necrose tumoral²⁷. A glicina também reduziu as dimensões de melanomas implantado experimentalmente em ratos²⁸. No entanto ainda é desconhecido seu efeito em seres humanos.

O efeito neurotransmissor inibitório da glicina se faz por meio de receptores ligados aos canais de cloro e é semelhante ao do ácido gama-amino butírico (GABA). A glicina hiperpolariza o neurônio motor pós-sináptico, por aumento da condução do cloro^{5,6}. Nas células de Kupffer do fígado e nos leucócitos, a glicina reduz o influxo de cálcio e diminui a produção de citocinas, de modo que esse influxo de cálcio torna-se o sinal para desencadear a cascata inflamatória do

organismo⁶. Nesse sentido a glicina é um agente antiinflamatório, imunomodulador e citoprotetor⁵. Contudo, não encontramos estudos que avaliassem os efeitos cicatriciais da glicina em anastomoses intestinais.

6.2 Glutamina

A glutamina (Gln), $\text{NH}_2\text{-CO-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH-NH}_2\text{-COOH}$, é o aminoácido mais abundante no plasma dos mamíferos e constitui aproximadamente metade dos aminoácidos livres do corpo humano. Por ser sintetizada na maior parte das células do organismo, a glutamina é denominada aminoácido não-essencial^{29,30}. Diferentemente dos outros aminoácidos a glutamina apresenta dois grupos nitrogenados: alfa-amino, $\text{CH(NH}_2\text{)}$, e um grupo amida, $\text{NH}_2\text{C(O)}$. Essa característica facilita o transporte de nitrogênio entre os diferentes tecidos e o de amônia, da periferia para os órgãos viscerais^{31,32}. Sua concentração plasmática varia entre 500 e 900 milimoles/litro.

Estados catabólicos, como trauma, sepse, operações de grande porte, transplantes de órgãos, quimioterapia e radioterapia são associados a redução da glutamina no plasma, em decorrência de seu consumo elevado^{33,34,35}. Quando a sua disponibilidade diminui, há risco de redução da barreira mucosa intestinal e da competência imunitária do tecido linfóide enterocolônico^{36,37,38}. Os enterócitos e as células do tecido linfóide usam esse aminoácido para manter a integridade da mucosa. A suplementação de glutamina enteral ou parenteral aumenta a concentração protéica e a espessura da mucosa intestinal³⁹. Alguns autores avaliaram a influência da suplementação oral de glutamina no metabolismo do nitrogênio e da amônia após laparotomia e ressecção intestinal em cães. Esses

trabalhos sugerem que o jejuno é o local de maior absorção e metabolismo desse aminoácido^{40,41}. Segundo esses autores, o intestino delgado contribui para o transporte da glutamina entre os órgãos humanos e participa da regulação do fluxo periférico de glutamina, por meio de seus mediadores.

A glutamina é um substrato energético importante para as células da mucosa intestinal⁴². Em operações de grande porte, como para tratamento de aneurisma abdominal, o nível plasmático de glutamina diminui após duas horas, porém o mesmo não ocorre em operações de menor porte, tal como o reparo de hérnia inguinal⁴³. A glutamina também é um aminoácido essencial ao organismo em pacientes vítimas de queimaduras de extensas áreas de pele⁴⁴. Quando associada à nutrição parenteral, ela aumenta o fluxo sanguíneo esplâncnico e reduz a morbimortalidade da enterocolite provocada por radiação⁴⁵, além de auxiliar na manutenção da homeostase ácido-básica e transporte de nitrogênio⁴⁶. As células inflamatórias usam glutamina para sua proliferação, síntese protéica e de ácidos nucléicos⁴⁷. Esse aminoácido é componente necessário para reparo tecidual e é liberado do músculo após trauma acidental ou cirúrgico, o que pode causar sua deficiência relativa tanto no músculo esquelético quanto no músculo liso intestinal⁴⁸. Após operações abdominais eletivas, o declínio da glutamina muscular é restaurado somente depois de um mês, sendo sua maior queda entre o terceiro e o quinto dia pós-operatório⁴⁹. O organismo parece beneficiar-se no período de estresse oxidativo pós-operatório, quando há suplementação nutricional de glutamina para manter os níveis séricos de glutathione, que é um depurador sanguíneo⁵⁰.

O número de dias em que é administrada a glutamina em estudos experimentais varia amplamente. Ela foi utilizada entre três a vinte e sete dias em

pacientes submetidos a operações eletivas ou de urgência^{51,52}. Falta de uniformidade entre os estudos da literatura também ocorreu com relação às doses utilizadas, seja em humanos seja em animais, por via oral ou parenteral. Há relatos de doses que variam entre 170 mg e 1000 mg por quilograma de peso por dia^{45,46,47}.

Algumas pesquisas experimentais utilizaram glutamina para avaliar seu impacto na anastomose intestinal, sendo constatado que a resistência da anastomose intestinal não foi maior com a suplementação nutricional parenteral com glutamina em ratos desnutridos⁹. Já Costa e cols (2003) mostraram em ratos normais que a suplementação alimentar oral pré-operatória com glutamina por sete dias aumentava a resistência das anastomoses intestinais, com maior depósito de colágeno tipo I (maduro)⁸. Demetriadis e cols (1999) verificaram que a cicatrização da anastomose colônica era melhor após a suplementação com glutamina por via oral em ratos. Essa diferença de métodos e resultados, estimulou novas pesquisas, para avaliar o efeito desse aminoácido na cicatrização do cólon.

6.3 Anastomose intestinal

A capacidade de cicatrização anastomótica depende do estado geral do paciente, destacando-se fatores nutricionais, glicêmicos, volêmicos, equilíbrio metabólico, uremia e sepse⁵³. A síntese intestinal pode ser feita com sutura em um ou dois planos, contínua ou com pontos separados, grampeadores mecânicos e anéis biofragmentáveis⁵⁴. A doença diverticular do cólon e a anastomose em regiões mais distais do intestino grosso estão relacionadas com maiores índices de complicações⁵⁵.

O período compreendido entre a operação e o sétimo dia pós-operatório é importante, pois nessa fase ocorre a maior parte das complicações cirúrgicas, como as deiscências intestinais^{54,56}. Para compreender a fisiologia da cicatrização da anastomose e a fisiopatologia das complicações, alguns trabalhos mostraram o efeito das técnicas cirúrgicas, do número de camadas suturadas e dos tipos de material de sutura nas anastomoses do trato gastrointestinal. Os fios cirúrgicos perdem a função de sustentação entre sete e dez dias após a confecção das anastomoses do intestino grosso, independentemente do material utilizado. A sutura constitui o elemento de sustentação das anastomoses na fase inflamatória, mas sua importância diminui à medida que se inicia a fibroplasia. Estudos experimentais revelaram que a anastomose feita com pontos separados ou sutura contínua tem efeito similar na resistência tênsil⁵⁷. Já a sutura, em plano único, aumentou o depósito de fibroblastos e melhorou a regeneração da mucosa intestinal com menor desvitalização tecidual na zona de anastomose e menor reação exsudativa até o sétimo dia pós-operatório⁵⁸. A cola de fibrina teve efeito semelhante ao do fio de seda na anastomose intestinal⁵⁹.

A resistência da anastomose intestinal é influenciada por muitas substâncias, entre as quais destacam-se os corticosteróides. A betametasona (4g), é prejudicial para a regeneração da mucosa intestinal e interfere no depósito de fibroblastos⁶⁰. Metilprednisolona, hidrocortisona e dexametasona retardam a síntese e a deposição de colágeno na cicatriz intestinal^{21,61,62}. A icterícia induzida experimentalmente também retardou o desenvolvimento da fibrose cicatricial e diminuiu a resistência da anastomose em ratos⁶³.

Por outro lado, há substâncias que são benéficas para a cicatrização intestinal, entre as quais destacam-se a vitamina C, ácido graxo de cadeia curta⁶⁴,

o hormônio do crescimento, esteróides anabolizantes⁶⁵ e a vitamina A. A vitamina C, por exemplo, quando administrada desde o pré-operatório, aumenta a resistência da anastomose jejunal^{14,15}. A vitamina A combinada com vitamina C pode prevenir os efeitos adversos da prednisolona em anastomoses intestinais⁶⁶. Esteróides anabolizantes melhoram a resistência à ruptura do intestino de coelho, mesmo sob efeito de corticoterapia⁶².

6.4 Cicatrização

O colágeno constitui uma família de proteínas com várias propriedades comuns. Sua estrutura é uma seqüência tríplice repetida de aminoácidos, ricos em hidroxiprolina e hidroxilisina. Um terço de seus aminoácidos são formados por glicina, serina, prolina, treonina e alanina. Esses aminoácidos diferem apenas no primeiro nucleotídeo do código. Nas feridas em fase de cicatrização, sobressai o colágeno tipo III e, na cicatriz madura, o colágeno tipo I⁶⁷. Após a migração das células inflamatórias do sangue para a ferida cirúrgica, os fibroblastos movem-se para a área lesada. Os fibroblastos são células ovais com abundante citoplasma e atividade mitótica intensa. Eles são vistos dois dias após a lesão. A partir de célula-tronco, o fibroblasto é ativado e secreta fibronectina, proteoglicanos e colágenos tipo I e tipo III. As fibras colágenas são depositadas em paralelo aos fibroblastos. Inicialmente, predomina o colágeno III, que após uma semana é substituído pelo colágeno tipo I^{58,68}. As fibras elásticas são estruturas ricas em elastina e em ligações cruzadas. À microscopia eletrônica, observam-se dois componentes distintos, um núcleo central amorfo e uma borda periférica de microfibrilas. Essas fibras formam arcabouço de espirais ao acaso, junto com a glicina, a prolina e a fibrilina⁶⁷. A hidroxiprolina é encontrada nos vertebrados

exclusivamente no colágeno, constituindo 4% de seu peso. Essa distribuição faz desse aminoácido o marcador mais utilizado para o estudo do metabolismo do colágeno⁵⁸.

Cicatrização é o restabelecimento da integridade de um tecido lesado. Sua fase inflamatória inicial leva à formação de exsudato rico em fibrina e fibronectina. As células mortas e os elementos resultantes da lise tecidual são removidos por células fagocitárias. O tecido conjuntivo de reparação é constituído por tecido conjuntivo vascularizado, com capilares novos, fibroblastos abundantes e número variável de células inflamatórias⁶⁹.

A avaliação da área em cicatrização com coloração de hematoxilina e eosina é utilizada para identificar os aspectos próprios da reação inflamatória aguda, cujo predomínio é de células polimorfonucleares, assim com identificar reação inflamatória crônica, cujo predomínio é de células mononucleares^{8,15,59,70}.

O processo de cicatrização das anastomoses compreende três fases. A fase inicial, inflamatória, inicia-se no primeiro dia pós-trauma e estende-se até o quarto dia, com predomínio de inflamação e edema. Suas alterações morfológicas são expressivas, com diminuição do conteúdo de colágeno e edema local. Há liberação de citocinas e de fatores de crescimento, ativação de células migrantes, especialmente macrófagos. Nessa fase, há redução da resistência anastomótica⁵⁹. Na fase inicial da cicatrização, o sucesso da anastomose depende da resistência conferida pelo material de sutura.

A segunda fase, fibroplasia ou logarítmica, ocorre do terceiro ao 14^o dia. Nesse período, há grande aumento, ativação e diferenciação de células endoteliais e de fibroblastos. O fibroblasto da ferida caracteriza-se por síntese maior de colágeno, quando comparada à síntese produzida pelo fibroblasto

normal ⁶⁷. A produção de tecido de granulação inicia-se após 48 horas e atinge seu pico máximo após sete dias. Nessa fase, as alterações morfológicas são graduais e ocorre aumento da resistência da anastomose a partir do terceiro dia após o trauma. No período de fibroplasia, há aumento transitório, em pico, com desaparecimento rápido de colágeno III na cicatriz operatória.

O método de coloração com picrossírius, utiliza luz polarizada e é específico para colágeno. Essa propriedade vale-se de sua forma característica de agregação das fibras colágenas dispostas em orientação paralela. Fibras fracas, de diâmetros variados, dispostas frouxamente exibem pequena birrefringência e são observadas como estruturas verdes – colágeno III. Por outro lado, fibras resistentes, firmemente agregadas em feixes e com diâmetros variados são caracterizadas por birrefringência intensa, aparecendo com coloração amarelada ou vermelha - colágeno tipo I ^{53,58,68}.

A terceira fase, maturação, estende-se do décimo ao 180^o dia, sendo caracterizada pela síntese e deposição progressiva de colágeno definitivo do tipo I. Nessa fase, a resistência é estável, caracterizada pela reorganização da parede da alça, ocorrendo restabelecimento das camadas intestinais ^{53,59,68}.

Brásken, em 1991, estudou os colágenos intestinais em anastomoses do sigmóide de ratos, por histologia convencional, imuno-histologia dos subtipos, histoquímica e hibridizações clonais com genes de anastomoses, com o objetivo de observar o metabolismo e o acúmulo de componentes da matriz extracelular na cicatrização da anastomose colônica. Segundo esse autor, os colágenos tipo I e II são depositados em três regiões da área anastomótica, na brecha anastomótica, na submucosa e na fáscia serosa. Suas concentrações maiores são vistas no sétimo dia, com pequeno decréscimo nas duas semanas

subseqüentes. O colágeno IV aumenta no terceiro dia, na origem dos vasos novos e na área de reepitelização, sendo o conteúdo máximo presente no sétimo dia após a anastomose ⁶⁸.

A concentração total de colágeno diminui cerca de 10% até o segundo dia pós-operatório, na cicatriz cirúrgica do intestino, depois aumenta até o sétimo dia. Em sentido inverso, o edema decresce progressivamente até quase desaparecer no sétimo dia pós-operatório ⁵⁸. Colágenos tipo I e tipo III estão concentrados principalmente na submucosa e na serosa. Esses tipos de colágeno atingem sua concentração máxima no sétimo dia pós-operatório e sua produção na mucosa é muito pequena ⁶⁸.

6.5 Pressão de ruptura anastomótica

A pressão de ruptura mede a resistência de um órgão cavitário ao aumento da pressão em seu interior, até ocorrer ruptura da anastomose. Essa distensão pode ser causada pela insuflação de ar ^{14,15,19,20,21,53,59,71}.

Durante a fase inicial da cicatrização, a pressão de ruptura permanece baixa; entretanto, seus valores crescem ao longo da cicatrização. A medida de pressão de ruptura, além do sétimo dia pós-operatório, é passível de crítica, já que a ruptura ocorre fora da região anastomótica. A resistência à distensão interna é um bom parâmetro para controlar a reparação anastomótica, quando a ruptura ocorre ao longo da anastomose ^{12,13,53,56}.

Segundo a lei de Laplace a tensão na parede de um cilindro é proporcional ao produto da pressão pelo raio ($T = P \times r$). A força tênsil de uma ferida varia com o processo de fibroplasia. Há elevação dos valores de pressão de ruptura até

sete dias após a operação⁵⁹. Em seguida, os valores estabilizam-se até o 14º dia pós-operatório.

Koruda e Rolandelli (1990) fizeram uma crítica sobre os parâmetros utilizados no estudo da cicatrização das anastomoses do trato gastrointestinal. Eles enfatizaram que a verificação da resistência intrínseca da anastomose à ruptura é parâmetro importante nessa investigação. A pressão de ruptura, com insuflação de ar ou água, reflete melhor o que acontece na situação clínica¹². A pressão de ruptura com insuflação de ar reflete a integridade da anastomose, embora não indique acuradamente a cicatrização anastomótica. Parece que a avaliação da tensão de ruptura mínima (medida do estiramento da amostra de intestino) é um bom parâmetro para avaliar a cicatrização e também traduzir a sua resistência. Essa tensão é mensurada como a força mínima necessária para romper alguma parte da anastomose e parece ser um bom parâmetro biomecânico para avaliar a cicatrização anastomótica. No presente estudo, optou-se por realizar a medida de pressão de ruptura dentro do abdome, não se desfazendo as aderências⁶⁵, para tornar a situação mais coerente com o que ocorre no pós-operatório.⁶⁵

7. MATERIAL E MÉTODO

7.1 Ética

O projeto desta pesquisa foi aprovado pela Câmara do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da UFMG em junho de 2005 (Anexo), e no Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA) sob o número 109\05 (Anexo).

7.2 Caracterização do estudo e dos animais

O estudo foi prospectivo, com amostra distribuída aleatoriamente e duplo desconhecido.

Foram utilizados 45 coelhos (*Oryctogalus cuniculus*) machos brancos raça Neozelandês, com peso variando entre 2.005 g e 3.180 g, e idade entre 24 e 28 semanas. Os animais foram provenientes da Fazenda de Criação de Animais para Experimentação da Escola Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais. Os seguintes dez animais foram excluídos do estudo por óbito:

- Grupo 1, um animal morreu por problema técnico ao puncionar-se a veia cava posterior e outro animal morreu por aspiração inadvertida, após alguns minutos, depois da administração de suplementação por gavagem;
- Grupo 2, um animal morreu por causa desconhecida no segundo dia após a operação e um outro morreu por provável obstrução intestinal (aderências), no terceiro dia pós-operatório;

- Grupo 3, um animal morreu durante o ato operatório, com parada cardiorrespiratória provavelmente secundária a intolerância às drogas, e um outro morreu no primeiro dia pós-operatório por problema técnico no biotério
- Grupo 4, um animal morreu por problema técnico no biotério no mesmo dia do segundo coelho do grupo 3 e outro morreu por evisceração;
- Grupo 5, um animal morreu por evisceração e outro foi excluído, por ter apresentado fístula da anastomose colônica, diagnosticada no dia da reoperação.

Os animais foram alocados em gaiolas individuais com ração para coelhos (Socil®, Belo Horizonte, Minas Gerais) e água *ad libitum*. Na ração oferecida aos animais não havia glicina ou glutamina como componentes (Tabela A1 do anexos). Os coelhos foram mantidos em biotério climatizado, com fotoperíodos de 12 horas diários. O trabalho foi realizado no Biotério Central da Faculdade de Medicina da UFMG.

7.3 Distribuição dos animais e protocolo de pesquisa

Durante todo o trabalho, os pacotes com as suplementações de aminoácidos receberam os nomes A, B, C, D. Somente após a análise dos resultados, foi revelada aos pesquisadores qual suplementação correspondeu a cada letra. Para facilitar a compreensão do leitor, as suplementações de cada grupo estão apresentadas desde o início, com o nome do suplemento que o coelho recebeu.

Os 45 coelhos foram distribuídos aleatoriamente nos seguintes grupos, cada grupo com nove animais :

Grupo 1 - suplementação alimentar com glutamina (denominou-se inicialmente suplementação A), durante sete dias no pré-operatório e durante cinco dias no pós-operatório;

Grupo 2 - suplementação alimentar com glicina (denominou-se inicialmente suplementação B), durante sete dias no pré-operatório e durante cinco dias no pós-operatório;

Grupo 3 - suplementação alimentar com glutamina (denominou-se inicialmente suplementação C), apenas durante cinco dias no pós-operatório;

Grupo 4 - suplementação alimentar com glicina (denominou-se inicialmente suplementação D), apenas durante cinco dias no pós-operatório;

Grupo 5 - Controle, serviu como padrão de referência, foi submetido ao mesmo procedimento dos grupos anteriores, porém sem suplementação nutricional.

7.4 Administração da suplementação com aminoácidos

Os pacotes de glutamina (Novartis ®São Paulo, Brasil) ou glicina (Ajinomoto ®, São Paulo, Brasil) foram preparados com 500 mg do aminoácido por quilograma de peso corporal. Todos os pacotes foram fechados e identificados com referências na embalagem, que não permitiram o conhecimento do aminoácido. Houve apenas a informação, na embalagem, sobre o peso do conteúdo de cada pacote. Os pesquisadores não souberam qual foi a substância administrada. Durante o período em que os animais receberam nutrição suplementar, os grupos receberam as denominações de pré e pós-operatório A e B, pós-operatório C e D e Grupo-controle. Após o término do experimento cirúrgico (aproximadamente 10 meses), de posse de todos os dados e análises, os pesquisadores souberam qual substância foi utilizada em cada grupo.

O conteúdo de cada pacote com a suplementação nutricional foi diluído em 5 ml de água e administrado por gavagem a cada coelho, utilizando cateter plástico número 14. Para essa administração, os animais ficaram presos em caixa apropriada (Figura 1), mantida a cabeça fora da caixa, por uma abertura circular anterior.

O peso dos animais foi registrado no dia da operação e no sexto dia pós-operatório, utilizando balança com graduação de 10 gramas e carga máxima para 6 kg (Filizola, São Paulo, Brasil).



Figura 1 - Administração da suplementação nutricional por gavagem.

7.5 Anestesia e técnica operatória

Os animais permaneceram em jejum durante 15 horas antes da operação. Não houve preparo mecânico do cólon.

Os animais foram anestesiados com cloridrato quetamina (1g/10ml, Dopalen[®], Belo Horizonte). A dose intramuscular de quetamina foi 100 mg/kg, combinada com cloridrato de xilazina (2%, 20mg/ml, Kensol[®]) 0,1ml. O tempo de anestesia variou entre 40 e 60 minutos^{59,72}.

A laparotomia mediana teve extensão de sete centímetros, e distou cinco centímetros do apêndice xifóide. Retirou-se 5 ml de sangue por punção (agulha 25 X 7 mm) da veia cava posterior para dosagem de albumina sérica (Figura 2). Em seguida, a artéria cólica média foi ligada com fio de seda 5-0, próximo à sua origem na artéria mesentérica cranial. As artérias marginais à direita e à esquerda da cólica média também foram ligadas (Figura 3). O primeiro corte foi feito a 12 cm da transição ileocecal. Um segmento de cólon de 17 cm foi removido. A reconstrução do trânsito colônico fez-se por meio de anastomose término-terminal, com pontos separados seromusculares, utilizando fio de seda 6-0 (Figura 4).

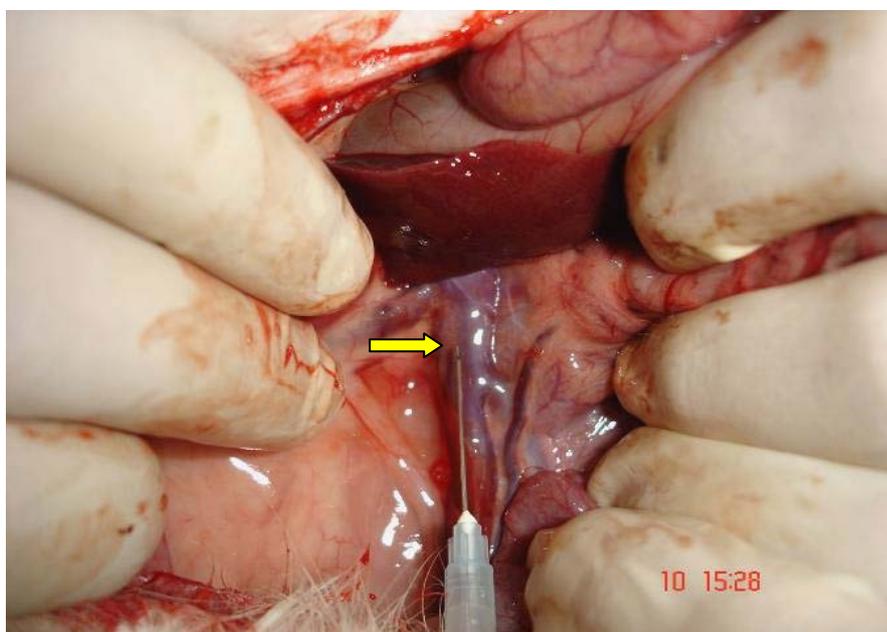


Figura 2 - Punção da veia cava posterior (seta), Coelho 1, Grupo 5.

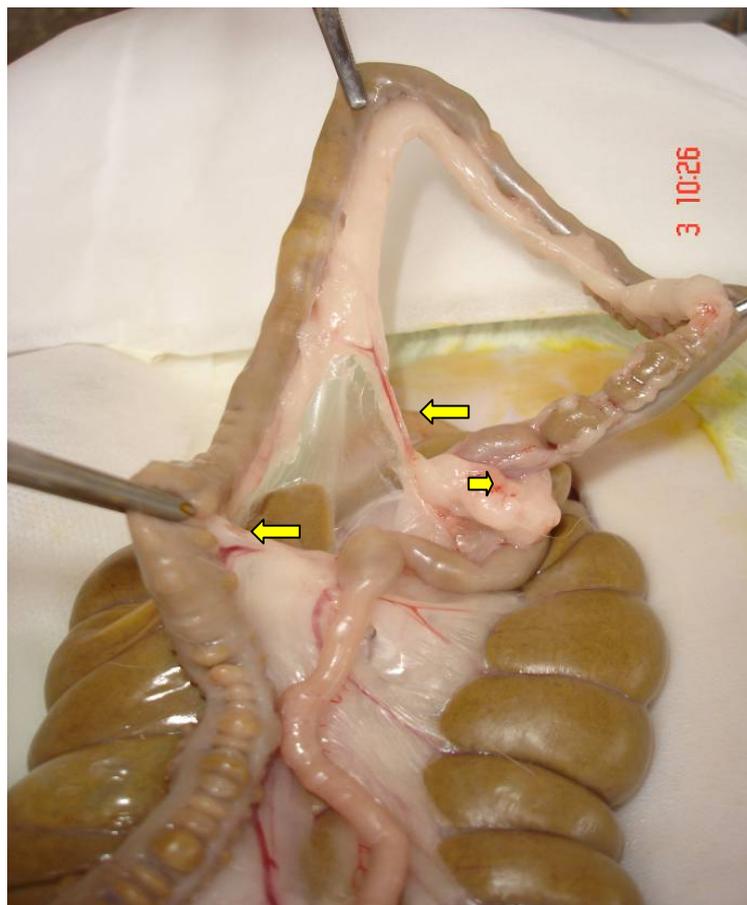


Figura 3 - Identificação dos pontos de referência anatômicos para a ressecção colônica (setas), Coelho 1, Grupo 1.

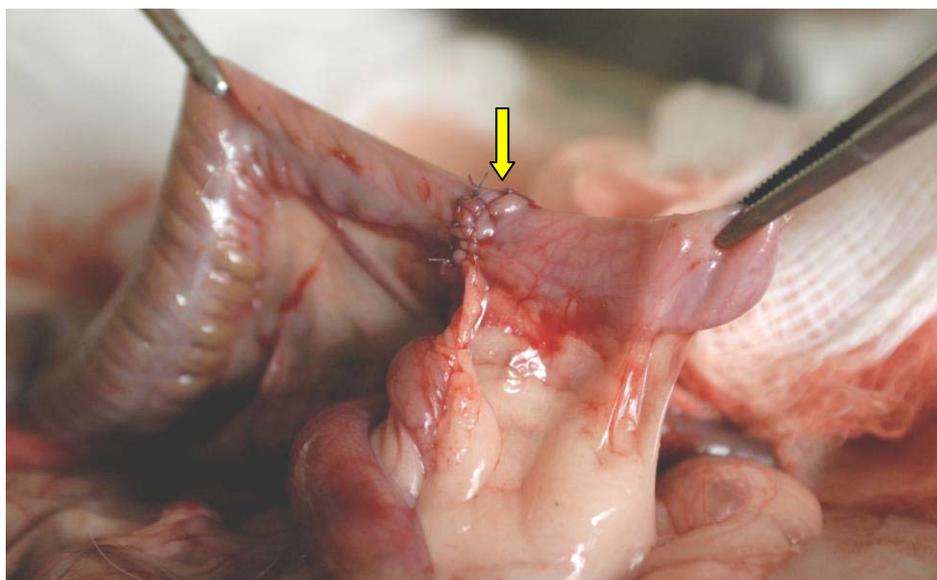


Figura 4 - Anastomose colônica seromuscular término-terminal com pontos separados (seta), Coelho 1, Grupo 5.

7.6 Cuidados pós-operatórios

No pós-operatório, água e ração foram oferecidas logo após a recuperação anestésica. Os animais receberam ou não a suplementação alimentar com glutamina ou glicina, conforme o grupo a que pertenciam, por um período de cinco dias. Registrou-se o peso corporal no sexto dia após a operação. Nesse mesmo dia, retirou-se amostra de sangue para avaliação da albumina e mediu-se a pressão de ruptura intestinal, após a morte do animal.

7.7 Coleta de sangue para exame e morte dos animais

No sexto dia pós-operatório, após anestesia com a mesma dose de quetamina e xilazina utilizada na operação prévia, os coelhos foram pesados e, em seguida, realizou-se laparotomia para retirada de amostra de sangue da veia cava posterior para dosagem de albumina. Em seguida, os animais foram mortos por secção da aorta abdominal. Com o coelho morto, mediu-se a pressão de ruptura por insuflação de ar.

7.8 Medida da resistência anastomótica

Um circuito de três vias (Figura 5), foi acoplado por uma via à coluna de vidro com mercúrio e escala milimetrada (Figura 6). Uma segunda via foi conectada à fonte de ar (Compressor Schulz, Joinville, Santa Catarina). O compressor de ar tinha capacidade para infusão 6 litros/minuto. No entanto, ele foi calibrado em um copo com água, para que fossem liberadas 150 bolhas de ar / minuto. A terceira via foi introduzida na parte proximal do segmento colônico isolado, a aproximadamente quatro centímetros da anastomose (Figura 7). O

cólon foi ligado com dois fios de algodão, distalmente, a quatro centímetros da anastomose ^{14,15,17,18,19,71}.

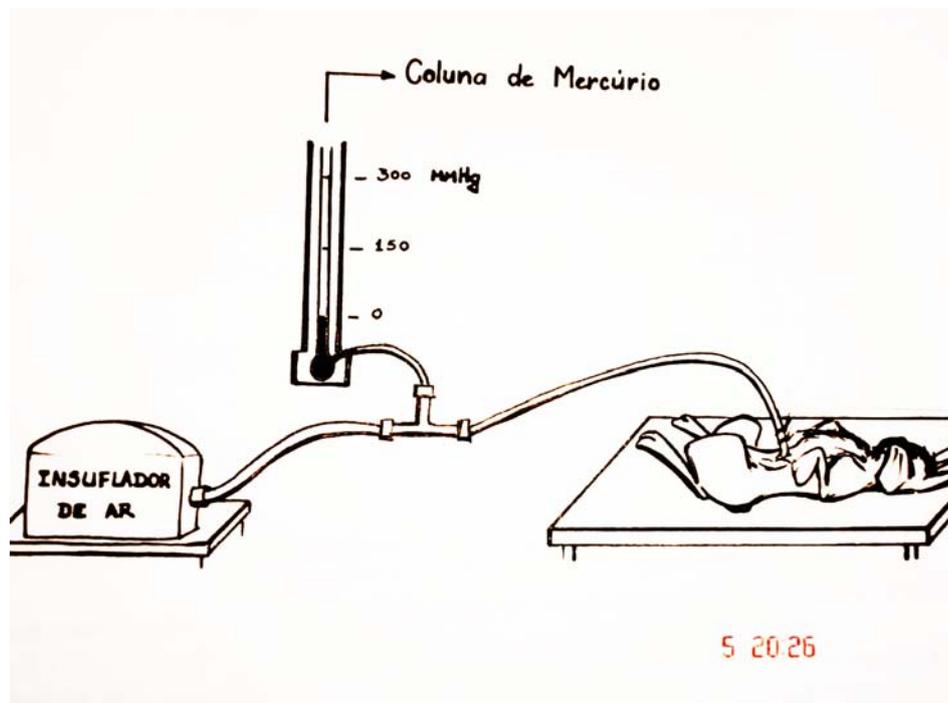


Figura 5 - Desenho esquemático mostrando o sistema de três vias, com insuflador de ar, coluna de mercúrio com régua milimetrada e coelho em decúbito dorsal.

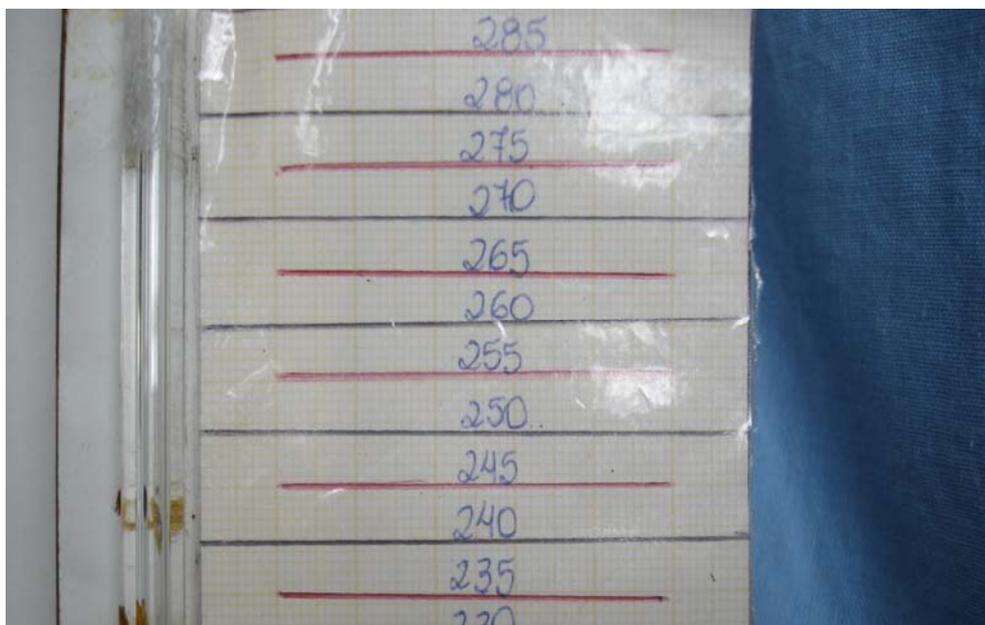


Figura 6 - Escala milimetrada – unidade em milímetros de mercúrio – utilizada no tensiômetro para medir a pressão de ruptura do cólon.

A medida da pressão foi realizada dentro do abdome. A cavidade abdominal foi preenchida com água, de modo que a ruptura intestinal fosse identificada pela presença de bolhas de ar. Nenhuma aderência foi desfeita junto à anastomose intestinal e o segmento a ser estudado teve extensão de 8 cm, contendo a anastomose em sua porção média. Marcou-se o ponto mais alto que a coluna de mercúrio alcançou sob o efeito da pressão de ar no circuito.

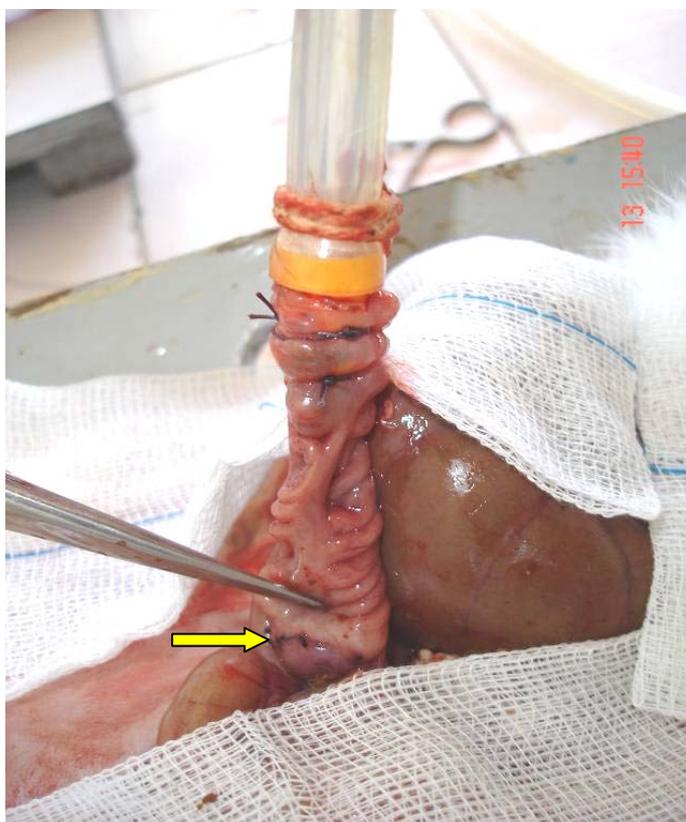


Figura 7 - Conexão entre o segmento proximal à anastomose (seta) e o sistema tubular para mensuração da pressão de ruptura.

7.9 Histologia

Um segmento colônico, de 4 cm de extensão, contendo a anastomose em sua porção média foi armazenado em solução de formalina a 10 % em meio

aquoso. O fragmento ressecado foi aberto longitudinalmente para ser fixado sobre uma placa de isopor, com alfinetes coloridos; que identificaram as partes distal e proximal do segmento. A face mucosa do fragmento intestinal ficou voltada para cima e a face serosa ficou em contato com a placa de isopor. Em seguida, cada placa de isopor contendo o fragmento foi colocado em recipiente individual com formalina (Antares, São Paulo) diluída a 10% em meio aquoso. O recipiente foi rotulado com a identificação do animal.

Realizou-se corte longitudinal em cada fragmento, com navalha descartável (Bioslides, China) e retirou-se uma amostra para avaliação histológica. Essas amostras foram desidratadas em concentrações crescentes de álcool etílico (Miyako, Guarulhos, Brasil), diafanizadas em xilol (Synth, São Paulo, Brasil) e incluídas em parafina (Parafina®-Merk, São Paulo- Brasil). De cada bloco foram retirados cortes histológicos de 5 a 7 micrômetros de espessura, com auxílio de micrótomo rotativo (Leica 2125®, China). O tecido foi colocado sobre lâmina de vidro, de modo que uma lâmina de cada amostra da anastomose foi corada com hematoxilina e eosina (Figura 8). Outra lâmina, foi corada pelo tricrômio de Masson (Figura A1 de Anexos) e uma terceira, com *Sirius-red* (Figura A2 de Anexos). Cada lâmina foi coberta por lamínula. Uma amostra de segmento intestinal controle, sem anastomose, também foi incluída, cortada, montada e corada, junto e da mesma maneira que as amostras das anastomoses. O segmento controle, sem anastomose, foi preparado da mesma forma.

A reepitelização da mucosa e a proliferação fibroblástica cicatricial da parede foram avaliadas por um único patologista, em análise qualitativa, de acordo com sua intensidade, expressa em unidades variáveis com graduação de zero a três, e interpretada como ausente (0), pequena (1), moderada (2) ou grande

intensidade (3)^{15,73}. O patologista fez sua avaliação, em lâminas codificadas com números, desconhecendo qual imunonutriente foi utilizado em cada animal. A área de cicatrização com proliferação fibroblástica foi mensurada em duas dimensões, isto é, largura máxima e comprimento máximo. A medida foi realizada com aumento entre 50 vezes e 500 vezes, utilizando lente e régua milimetrada acoplada à ocular do microscópio óptico (Nikon Alphaphot-2, Estados Unidos da América).

Os achados histológicos na avaliação do grau de proliferação fibroblástica (fibroplasia), reepitelização da mucosa e medida da área em cicatriz, foram obtidos analisando todo o campo histológico da anastomose em cada lâmina, pelas colorações hematoxilina-eosina (HE) e tricrômio de Masson.

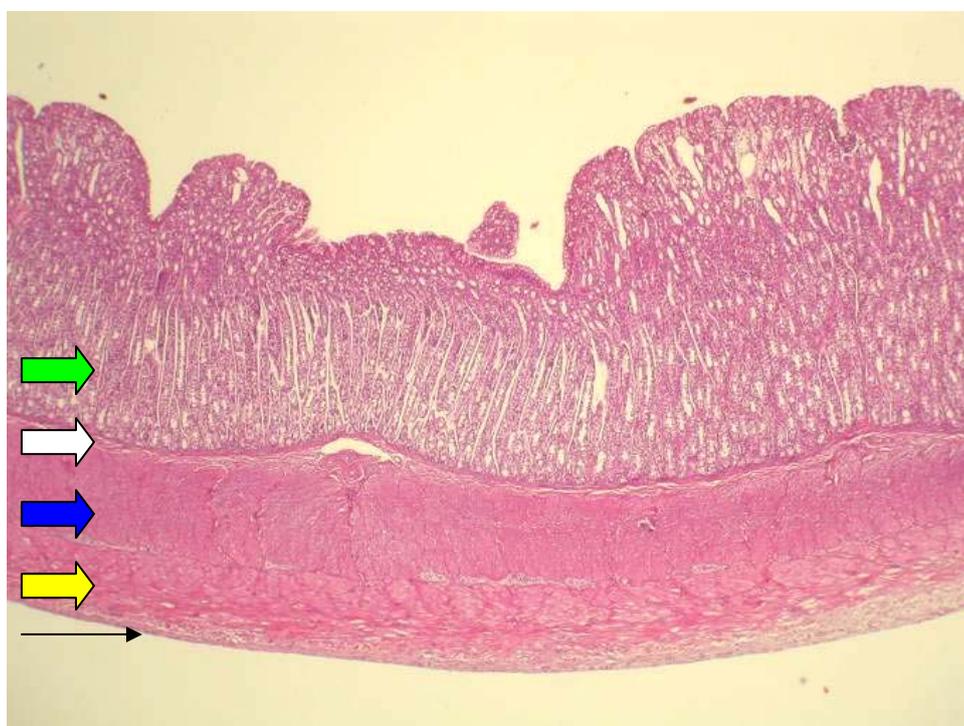


Figura 8 - Fotomicrografia, ilustrando a histologia do cólon íntegro. De baixo para cima camada serosa (seta preta), muscular longitudinal (seta amarela), camada muscular circular (seta azul), submucosa (seta branca) e mucosa (seta verde). Coelho 2, Grupo 1 (hematoxilina e eosina - 50X).

7.10 Avaliação estatística

Foram avaliadas três variáveis contínuas: peso corpóreo, albumina sérica e pressão de ruptura da cicatriz. Elas foram comparadas entre os grupos pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, que não depende de as variáveis apresentarem distribuição normal ou gaussiana. A pressão ruptura foi comparada entre os grupos pelo teste Student-Newman-Keuls⁷⁴, que estabelece as diferenças entre as médias dos valores de cada grupo estudado. As variáveis pré e pós-operatórias de cada grupo foram comparadas pelo teste t pareado.

Para a avaliação de reepitelização da mucosa e do tecido conjuntivo de reparação, os indicadores semiquantitativos foram agrupados em dois subgrupos. O primeiro subgrupo juntou os animais com fibroplasia ausente ou com fibroplasia de pequena intensidade e o segundo subgrupo juntou os animais com fibroplasia de intensidade moderada e com fibroplasia de grande intensidade. As variáveis categóricas referentes ao grau de epitelização e de fibroplasia foram comparadas entre os grupos pelo teste do qui ao quadrado, com correção de Yates, e pelo teste de Fisher, quando o número de variáveis foi menor que cinco. A comparação da área de cicatriz entre os grupos foi realizada pelo teste de Kruskal-Wallis.

O nível de significância estatística foi estabelecido para inferior a 5% ($p < 0,05$).

8. RESULTADOS

8.1 Peso dos animais

No dia da operação, não houve diferença entre o peso dos coelhos de todos os grupos (Tabelas 1 e A7, A8, A9, A10, A11 dos Anexos). No sexto dia pós-operatório, esse peso diminuiu, em todos os grupos, em média, cerca de 221 gramas, ou seja, 9,1% do peso inicial $p < 0,001$ (Tabela 1).

Tabela 1: Valores da média e do desvio padrão da média (DPM) do peso, comparando cada grupo de coelhos antes e após seis dias da operação.

Grupo	Peso(g)			
	Pré-operatório		Pós-operatório	
	Média	DPM	Média	DPM
1	2.529,3	124,5	2.250,7	136,0*
2	2.582,9	242,5	2.382,1	269,1*
3	2.297,9	177,9	2.131,4	194,8*
4	2.362,9	187,3	2.114,3	166,4*
5	2.315,7	117,5	2.100,7	124,8*

* peso menor em relação ao do pré-operatório (teste t pareado, $p < 0,05$)

Grupo 1 - suplementação com glutamina no pré e pós-operatório.

Grupo 2 - suplementação com glicina no pré e pós-operatório.

Grupo 3 - suplementação com glutamina no pós-operatório.

Grupo 4 - suplementação com glicina no pós-operatório.

Grupo 5 – controle.

8.2 Albumina

Os valores da albumina sérica no dia da operação não diferiram entre os grupos ($3,29 \pm 0,30$), no entanto seus valores no sexto dia pós-operatório, em todos os grupos, foram menores ($2,72 \pm 0,18$) que no dia da operação, $p < 0,001$ (Tabela 2 e A7, A8, A9, A10 e A11 - dos Anexos).

Tabela 2: Valores da média e desvio padrão da média (DPM) da albumina sérica, comparando cada grupo de coelhos antes e após seis dias da operação.

Grupo	Albumina(g/dl)			
	Pré-operatório		Pós-operatório	
	Média	DPM	Média	DPM
1	3,38	0,43	2,68	0,18*
2	3,28	0,15	2,62	0,16*
3	3,36	0,42	2,66	0,19*
4	3,19	0,20	2,74	0,20*
5	3,21	0,16	2,86	0,14*

* Valor de albumina menor em relação ao pré-operatório (teste t pareado, $p < 0,05$)

Grupo 1 - suplementação com glutamina no pré e pós-operatório.

Grupo 2 - suplementação com glicina no pré e pós-operatório.

Grupo 3 - suplementação com glutamina no pós-operatório.

Grupo 4 - suplementação com glicina no pós-operatório.

Grupo 5 – controle.

8.3 Pressão de ruptura anastomótica

No Grupo 2 (suplementação com glicina pré e pós-operatória), a pressão de ruptura da anastomose intestinal foi maior que no Grupo 5, controle (Tabela 3 e A2, A3, A4, A5, A6 dos Anexos), com $p = 0,006$. Nos demais grupos não houve diferença em relação ao controle.

Tabela 3 – Valores da média e desvio padrão da média (DPM) da pressão de ruptura, dos grupos de coelhos.

Grupo	Pressão de ruptura(mm/Hg)	
	Média	DPM
1	161,4	38,6
2	218,6*	50,7
3	127,9	59,4
4	206,4	48,5
5	127,8	82,1

* Pressão de ruptura do Grupo 2 maior que do Grupo 5 e maior que do Grupo 3 (teste Student-Newman-Keuls, $p < 0,05$)

Grupo 1 - suplementação com glutamina no pré e pós-operatório.

Grupo 2 - suplementação com glicina no pré e pós-operatório.

Grupo 3 - suplementação com glutamina no pós-operatório.

Grupo 4 - suplementação com glicina no pós-operatório.

Grupo 5 – controle.

8.4 Morfologia

8.4.1 Macroscopia

Observou-se, no momento da aferição da medida da resistência intestinal à insuflação de ar, que a região anastomótica foi envolvida por aderências (Figura 9). A presença de sinal de fístula ou abscesso na anastomose foi motivo de exclusão do animal (Coelho 8, Grupo 5) do estudo (Figura 10).

8.4.2 Microscopia (Epitelização de mucosa)

Pode-se observar em todas as lâminas restos alimentares, células gigantes multinucleadas, fio de sutura, reação inflamatória, úlcera mucosa (área da linha de anastomose, não epitelizada e recoberta por fibrina), áreas de necrose, tecido de granulação e reação granulomatosa de corpo estranho⁷⁰.

A comparação da intensidade da epitelização da mucosa não revelou diferença entre os grupos (Tabelas 4 e A2, A3, A4, A5 e A6 dos Anexos). Predominou pouca intensidade de epitelização de mucosa em todos os grupos, exceto no Grupo 3, que apresentou distribuição similar entre ausente e pequena e moderada e grande.

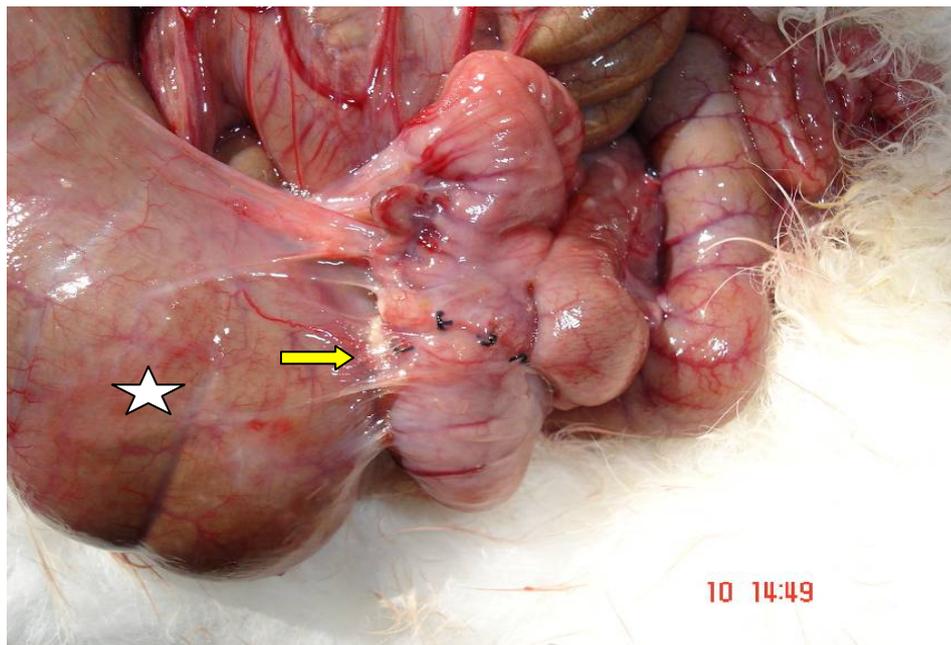


Figura 9 – Aderências (seta) entre o ceco (estrela), a anastomose e alças de intestino delgado, Coelho 4, Grupo 3.

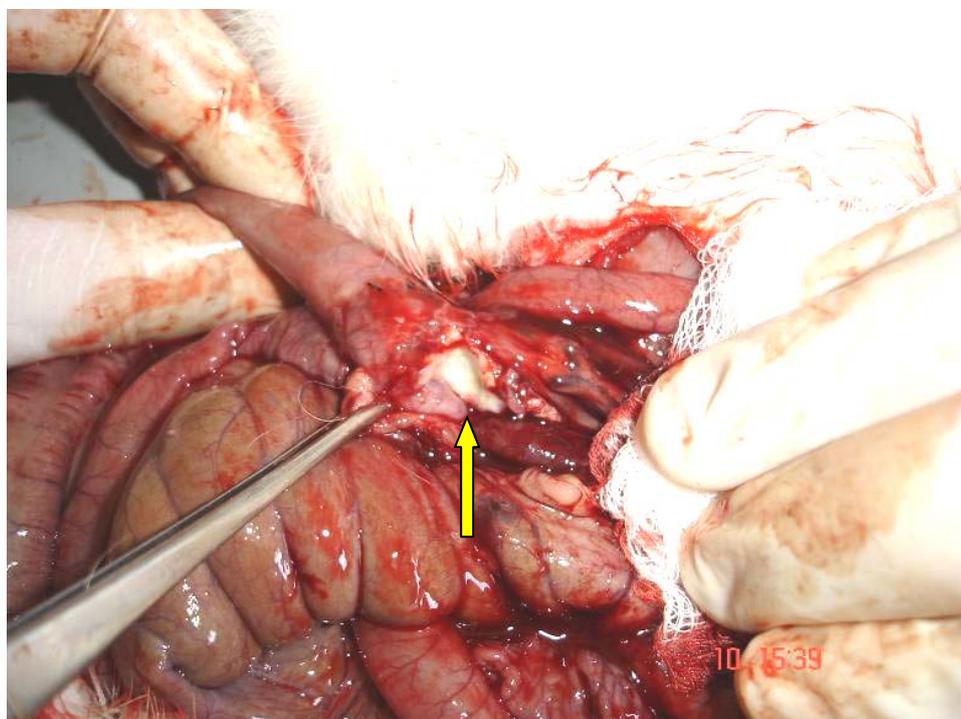


Figura 10 - Fístula anastomótica de cólon (seta), Coelho 8, Grupo 5.

Tabela 4 - Número de coelhos por grupo que apresentou epitelização da mucosa, de acordo com sua intensidade.

GRUPO	Ausente + Pequeno	Moderada + Grande	p
	N	N	
1	5	2	1,0
2	6	1	1,0
3	3	4	0,26
4	5	2	0,52
5	6	1	

p – nível de significância

Grupo 1 - suplementação com glutamina no pré e pós-operatório.

Grupo 2 - suplementação com glicina no pré e pós-operatório.

Grupo 3 - suplementação com glutamina no pós-operatório.

Grupo 4 - suplementação com glicina no pós-operatório.

Grupo 5 – controle.

8.5 Tecido conjuntivo de reparação (Fibroplasia)

A intensidade da fibroplasia não foi diferente entre os grupos, ainda que o Grupo 3 (glutamina pós-operatório) tenha mostrado tendência de predomínio de fibroplasia de intensidade moderada e grande (Tabela 5 e A2, A3, A4, A5 e A6 dos Anexos).

Na cicatrização anastomótica, a camada muscular estava interrompida, devido à secção cirúrgica (Figura 11). Na região da anastomose intestinal, encontrou-se infiltrado inflamatório, predominantemente de polimorfonucleares,

neoformação vascular e reação granulomatosa do tipo corpo estranho ao fio de seda, com presença de células gigantes em alguns casos (Figura 12). Havia tecido de granulação (células inflamatórias, neoformação vascular e fibroblástica) em toda a espessura da parede e participando da cicatrização.

Tabela 5: Caracterização da fibroplasia, em ausente, pequena, moderada e grande intensidade. Comparação entre os grupos de coelhos.

GRUPO	Ausente + pequeno N	Moderada + grande N	p
Grupo1	5	2	0,28
Grupo2	1	6	1,0
Grupo3	0	7	0,46
Grupo4	4	3	0,59
Grupo5	2	5	

p - nível de significância

Grupo 1 - suplementação com glutamina no pré e pós-operatório.

Grupo 2 - suplementação com glicina no pré e pós-operatório.

Grupo 3 - suplementação com glutamina no pós-operatório.

Grupo 4 - suplementação com glicina no pós-operatório.

Grupo 5 – controle.

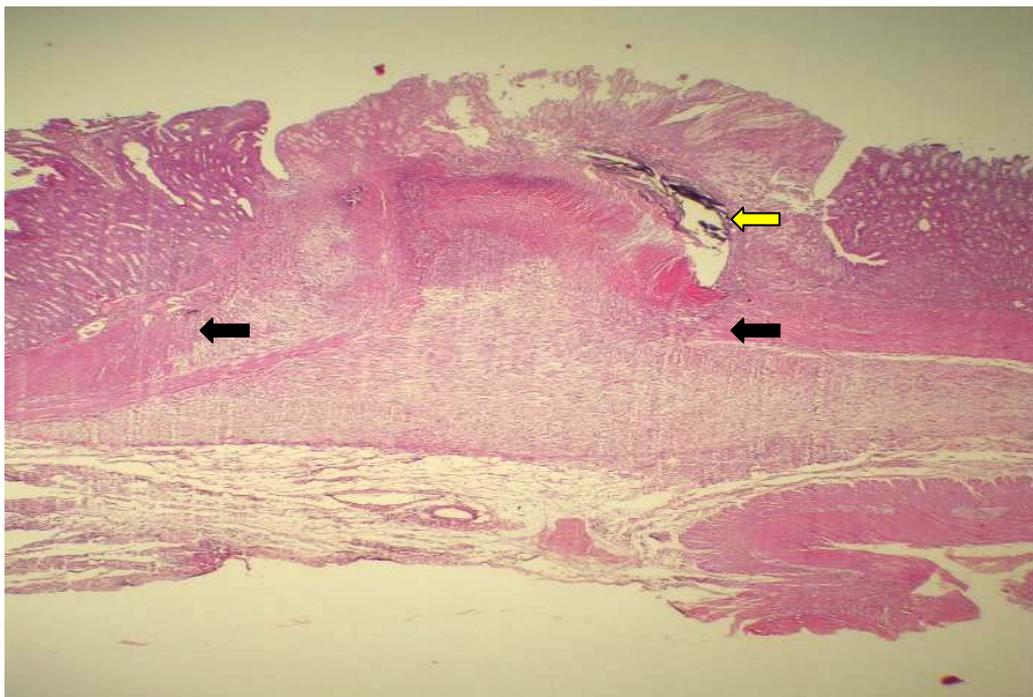


Figura 11 - Corte histológico mostra limites da área em cicatrização, interrupção da camada muscular (setas pretas) e fio de seda (seta amarela). HE – 50X.

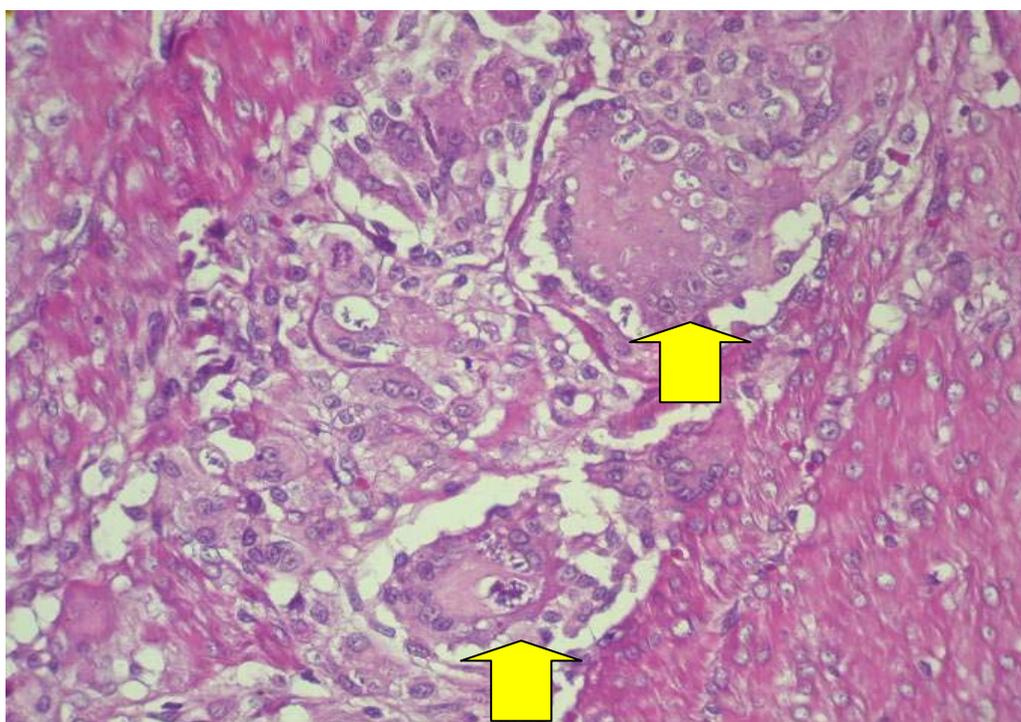


Figura 12 - Células gigantes multinucleadas, tipo corpo estranho, na área de cicatrização. HE – 400X.

8.6 Medida da área de cicatriz

A comparação dos valores da média com seu desvio-padrão relativo à área de cicatrização não apresentou diferença entre os grupos estudados (Tabelas 6 e A2, A3, A4, A5 e A6 dos Anexos).

Tabela 6 - Apresentação da média e desvio padrão da média (DPM) da área de cicatriz em milímetros, entre os grupos de coelhos.

Grupo	Média	DPM
1	38,3	23,4
2	44,9	41,3
3	15,5	9,6
4	32,4	22,3
5	23,5	12,6

Kruskal-Wallis, $p = 0,165$

Grupo 1 - suplementação com glutamina no pré e pós-operatório.

Grupo 2 - suplementação com glicina no pré e pós-operatório.

Grupo 3 - suplementação com glutamina no pós-operatório.

Grupo 4 - suplementação com glicina no pós-operatório.

Grupo 5 – controle.

7. DISCUSSÃO

A escolha do coelho como animal de experimentação para este trabalho foi feita em função da semelhança anatômica de seu intestino grosso com o humano, além de ser um animal de fácil manuseio^{59,75,76}, e que aceita sem agressividade os cuidados pré-operatórios e pós-operatórios.

A glicina é um aminoácido de estrutura molecular simples, cuja dose recomendada pode variar entre 50 mg e 500 mg de aminoácido por quilograma de peso corporal ao dia^{1,3,5,8}. Neste trabalho optou-se pela dose de 500 mg por quilograma de peso corporal pois, foi a dose usada em estudo anterior⁸ e caso não fosse encontrado efeito algum, esse fato não poderia ser atribuído à quantidade insuficiente de aminoácido.

A glicina tem sido utilizada como controle de outros aminoácidos em estudos experimentais. No entanto, algumas de suas propriedades imunomoduladoras e antiinflamatórias já foram estudadas^{1,2,5,77,78}. Acredita-se que sob demanda aumentada, como no pós-trauma, altas doses de glicina teriam efeito farmacológico^{5,6,79}. Logo, a glicina não deve ser considerada um aminoácido sem efeito biológico e não deve ser usada como controle de outro aminoácido¹. No estudo de Costa e cols, 2003, a glicina não teve efeito benéfico na cicatrização da anastomose intestinal, ao contrário da glutamina, que melhorou a cicatrização. Não encontramos na literatura estudo que mostrasse impacto positivo da glicina na cicatrização intestinal.

Ao realizar um estudo duplo desconhecido, teve-se a intenção de minimizar possíveis tendências ou interferências e permitir uma coleta de dados sem prever

resultados, já que a glutamina é considerada um aminoácido com múltiplas funções.

A glutamina, quando utilizada em doentes graves, diminui o risco de complicações infecciosas, como pneumonia, abscesso intra-abdominal, infecção da parede abdominal, infecção do trato urinário^{44,46,51}. O suporte nutricional perioperatório reduz a morbidade e o tempo de permanência hospitalar^{46,51}. A alimentação enteral reduz a incidência de complicações infecciosas. Há indícios também de que imunonutrientes podem produzir imunoestimulação no paciente submetido a grandes operações⁵¹. No entanto, esse benefício da glutamina não foi observado por Schulman e cols (2005)⁴⁴.

A melhor dose de glutamina não é bem definida^{46,51,52}, variando de 170 mg a 1000 mg por quilograma de peso corporal ao dia. No entanto, parece que a dose de 500 mg por quilograma de peso ao dia é segura⁸ e eficaz, motivo pelo qual optou-se por essa dose no presente estudo,. Com essa dose, não se observou efeito adverso em ratos, de acordo com Costa e cols (2003). O número de dias em que se deve oferecer a suplementação nutricional varia amplamente na literatura^{8,9,46,52}. Optou-se por utilizar, à semelhança de três estudos experimentais prévios, a suplementação nutricional durante sete dias que antecedem à operação e os primeiros cinco dias pós-operatórios^{8,9,10}.

O preparo mecânico do intestino não foi realizado pelos autores, já que há evidências na literatura, que mostram ser o preparo mecânico intestinal ineficaz em relação aos índices de complicações da anastomose^{80,81,82}.

Ao contrário de outros trabalhos em que somente colotomia foi realizada para avaliar o efeito da glicina e da glutamina na cicatrização intestinal^{8,9,10}, neste estudo efetuou-se colectomia, que é um procedimento mais demorado, provoca

repercussões sistêmicas maiores pela extensão do trauma. Escolheu-se a anastomose com fio de seda e fechamento em plano seromuscular com pontos separados, por ser essa a maneira como o autor realiza a anastomose colônica na prática cirúrgica.

A cicatrização anastomótica é influenciada pelo grau de resposta inflamatória primária, pelo grau de maturação do colágeno e grau de epitelização mucosa^{10,68}. A diminuição do edema anastomótico, o aumento do depósito de fibroblastos e o aumento da síntese de colágeno caracterizam a fase de fibroplasia^{58,59,68}, que é a etapa de cicatrização de interesse neste estudo. A coloração com hematoxilina e eosina foi também usada em estudos anteriores^{14,15,17,22,57,58,59,63,76}, para determinação de fibroplasia, epitelização e determinação do tamanho da área de cicatriz.

Demétríades e cols¹⁰ (1999) observaram maior quantidade de vasos sanguíneos novos e maior atividade fibroblástica em ratos que receberam glutamina durante cinco dias após colotomia. McCauley e cols⁹ (1991) mostraram que o peso da mucosa colônica, comparando ratos mal-nutridos que receberam nutrição parenteral suplementar com glutamina, foi semelhante ao grupo de ratos com suplementação sem glutamina.

Costa e cols (2003), usando coloração hematoxilina e eosina, observaram maior concentração de monócitos na área de anastomose no grupo de ratos que recebeu glicina como suplemento alimentar. Com a coloração *Sirius red*, observou-se maior concentração de colágeno maduro no grupo de ratos que recebeu suplementação enteral suplementar com glutamina. No presente estudo, a epitelização mucosa, a área de cicatrização e a fibroplasia não foram diferentes nos grupos que receberam suplementação com glicina ou glutamina.

Apesar de os autores terem utilizado a coloração *Sirius red* em uma lâmina para cada animal, não houve acesso ao método apropriado para avaliação das lâminas por meio de monitor de imagem que avaliasse quantitativamente as fibras de colágeno. Já existem pesquisadores no laboratório de Anatomia Patológica empenhados na aplicação do método com *Sirius red*, e em breve o material deste experimento poderá ser avaliado por essa técnica.

Para analisar a variável contínua, pressão de ruptura, foram estudados os cinco grupos de coelhos. A comparação pelo teste ANOVA avaliaria em conjunto todos os cinco grupos e um valor de $p < 0,05$ indicaria que existe diferença entre si, mas não revelaria quais médias eram diferentes. Outra opção teria sido utilizar o grupo-controle como padrão e fazer a comparação dos outros quatro grupos com ele. Entretanto, essa comparação múltipla poderia interferir nos pressupostos de independência entre os testes, além de alterar o erro tipo I (valor p ou erro alfa).

Neste trabalho, quatro comparações resultariam na probabilidade de que nenhum dos testes isoladamente apresenta significância ($p = 0,814$). Uma forma de corrigir essa distorção seria utilizar o método de Bonferroni, que consiste em dividir o valor de significância usual (0,05) pelo número de comparações, que, neste caso, resultaria em $p = 0,0125$. No entanto, a diferença só seria considerada como significativa se o valor de p fosse menor que 0,0125. Outra opção seria utilizar testes desenvolvidos especialmente para a comparação de vários grupos, como o Student-Newman-Keuls. Esse teste mantém o valor do erro tipo I em 5% e apresenta “grupos” de médias que não diferem entre si. Portanto além de apresentar quais variáveis diferem do controle, esse teste revela quais diferem entre si, em todos grupos⁷⁴.

A resistência mecânica da anastomose tem sido determinada basicamente por dois métodos. O primeiro é a medida de resistência a ruptura longitudinal, em que a força de ruptura à tração permite analisar a resistência de uma anastomose, quando é submetida a força variável em sentido axial, perpendicular em relação à linha de sutura. Além de esse método ter sido sujeito a crítica por ser difícil aplicar força uniforme em toda a circunferência intestinal¹², há desvantagens pela existência de forças de atrito, que surgem com o deslizamento dos componentes mecânicos, que podem ser somadas ou subtraídas do valor medido¹⁶. Há também a influência da contração da peça examinada, que não tem propriedade mecânica homogênea, devido aos vários componentes do tecido examinado. Outro inconveniente desse método é não simular adequadamente uma situação real “*in vivo*”, pois não há condição que provoque tração longitudinal de anastomose⁸³.

O segundo método avalia a resistência da anastomose por aumento da pressão intraluminal. A pressão de ruptura à distensão é um teste de resistência à instilação de gás^{14,15,18,20,63} ou líquido^{10,64,65}, em uma alça intestinal ocluída e insuflada até romper a anastomose ou a parede do intestino adjacente a ela. A pressão de ruptura determina a integridade e a resistência da anastomose em relação ao restante da parede do órgão. Optou-se, neste trabalho, por utilizar a medida de pressão de insuflação de ar, por reproduzir uma situação clínica mais real, pois a distensão das anastomoses ocorre por dilatação luminal do intestino e não por sua tração longitudinal. Variáveis, como a extensão dos segmentos intestinais, o diâmetro do segmento intestinal, o dia pós-operatório em que os segmentos foram estudados e a velocidade de infusão do líquido interferem no resultado desse exame. Nesse sentido, teve-se o cuidado de homogeneizar todos

os parâmetros estudados, tanto com relação aos animais, quanto à operação e características do segmento de cólon ⁸³.

O valor da pressão de ruptura tem sido mensurado com o intestino fora do abdome do animal ^{14,15,17,18,20,21,63}. Entretanto, neste trabalho, preferiu-se avaliar a resistência tênsil colônica dentro do abdome, não se retirando as fezes do lúmen intestinal e não manipulando as aderências. É possível que as aderências contribuam para aumentar a resistência tênsil do intestino, proporcionando vedação de falhas na anastomose, além de aumentar a capacidade de drenagem linfática⁸⁴. Essas aderências podem funcionar como protetores do tamponamento mecânico em eventuais áreas de vazamento da anastomose⁸⁴. O método de avaliação do intestino dentro do abdome, sem manipulação das aderências, já foi estudado previamente ^{64,65}. Deve-se ressaltar que as aderências são encontradas ao redor de todas as anastomoses. Assim sendo, os valores de resistência encontrados são dignos de serem considerados como reais em situações clínicas.

Três estudos utilizaram suplementação alimentar com glutamina e avaliaram a resistência da anastomose. McCauley e cols, 1991, mediram a insuflação de solução salina para avaliar a pressão de ruptura dentro do abdome do animal. Esses autores observaram que a glutamina não melhorou a cicatrização da anastomose colônica⁹. Em outro trabalho, Demetriadis e cols, 1999, utilizaram a pressão de ruptura com infusão salina e encontraram valores de pressão de ruptura maiores no grupo que recebeu glutamina enteral ¹⁰. No terceiro estudo, Costa e cols, 2003, por meio da tensão de ruptura, verificaram que a glutamina melhorou a cicatrização intestinal.

Na presente pesquisa, realizou-se um estudo duplo desconhecido, com uma operação de maior porte que os trabalhos anteriores (colectomia parcial)

mediante pressão de ruptura com insuflação de ar, dentro do abdome. O grupo que recebeu suplementação nutricional com glicina por via oral teve maiores valores de pressão de ruptura, portanto esse aminoácido aumentou a resistência tênsil da anastomose intestinal. É possível que a glicina tenha melhorado a microcirculação na anastomose ou modulado a inflamação local nos dias iniciais após o trauma, reduzindo a intensidade da colagenólise nas fases iniciais de reparação dos tecidos e de fibroplasia.

Ao término deste experimento, constatou-se que a suplementação nutricional pode ser útil no pós-operatório. Para prosseguir nesta linha de pesquisa, deve-se ponderar sobre o controle da infusão de ar ou água, nos métodos de pressão de ruptura. Outra alternativa de controlar essa pressão poderia empregar bombas de infusão como, as utilizadas para injeção contínua de líquidos intravenosos. As doses de nutrientes que não tiveram efeito comprovado, como foi o caso da glutamina, podem ser eventualmente aumentadas.

O número de dias para a administração do nutriente também pode ser reavaliados, utilizando, por exemplo, a glicina no pré-operatório em período mais curto, para avaliar-se um possível benefício com menor número de dias de suplementação nutricional no pré-operatório. Existe a expectativa de que o suporte nutricional seja considerado no manejo dos pacientes cirúrgicos, para diminuir os índices de complicações pós-operatórias e cicatriciais.

8. CONCLUSÕES

A glicina administrada no período perioperatório, aumenta a resistência anastomótica do cólon, sem mudanças em seu aspecto morfológico macro ou microscópico. Em presença de glutamina, não foram detectadas alterações morfológicas ou de resistência anastomótica colônica.

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 Hall C. Glicine. *J Parent Enteral Nutr* 1998; 22: 393-8.
- 2 Roth E, Zellner M, Wessner B, Strasser E, Manhart N, Oehler R, Spittler A. Glycine. *Nutrition* 2003; 19: 817-8.
- 3 Gundersen RY; Vaagenes P, Breivik T, Fonnum F, Opstad P K. Glycine. *Acta Anaest Scand* 2005; 49: 1108-16.
- 4 Weinberg J M, Davis J, Abarzira M, Rajyn T. Citoprotective effects of glycine and glutathione against hypoxic injury to renal tubules. *J Clin Invest* 1987; 80: 1446-9.
- 5 Zhong Z, Wheler M D, Li X, Froh M, Schemmer P, Yin M, Bruzendaml H, Bradford B, Lemasters J J. L-glycine: a novel anti-inflammatory, immunomodulatory, and cytoprotective agent. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2003; 6: 229-40.
- 6 Wheeler M D, Ikejena K, Enomoto N, Stacklewitz R F, Seabra V, Zhong Z, Yin M, Schemmer P, Rose M L, Rusyn I, Bradford B, Thurman RG. Glycine. *Cell Mol Life Sci* 1999; 56: 843-56.
- 7 Bulus N, Cersosimo E, Ghishan F, Abumrad N W. Physiologic importance of glutamine. *Metabol* 1989, 38: 1-5.
- 8 Costa M A R, Campos A C L, Coelho J C U, Barros A M, Matsumoto H M. Oral glutamine and the healing of colonic anastomoses in rats. *J Parent Ent Nutr* 2003; 27: 182 – 6.
- 9 McCauley R, Platell C, Hall J, McCulloch R. Effects of glutamine infusion on colonic anastomotic strength in the rat. *J Parent Ent Nutr* 1991; 15: 437-9.

-
- 10 Demetriades H, Botsios D, Kazantzidou D, Sakkas L, Tsalis K. Effect of early postoperative enteral feeding on healing of colonic anastomoses in rats. *Eur Surg Res* 1999; 31: 57-63.
- 11 Alexander J W. Nutritional pharmacology in surgical patients. *Am J Surg* 2002; 183: 349 - 52.
- 12 Koruda M J, Rolandelli R H. Experimental studies on the healing of colonic anastomoses. *J Surg Res* 1990, 48: 504-15.
- 13 Genzini T, Carneiro D'Albuquerque L A, Miranda M P, Scafuri A G, Silva A O. Intestinal Anastomoses. *Rev Paul Med* 1992; 110: 183-92.
- 14 Petroianu A, Souza S D, Martins S G, Alberti L R, Vasconcelos L S. Influência da vitamina C e da hidrocortisona sobre a tensão anastomótica jejunal em ratos. *Acta Cir Bras* 2000; 15: 215-9.
- 15 Petroianu A, Sousa A A, Trapiello Neto V, Rios V S, Barbosa A J A. Effect of sodium carboxymethylcellulose and methylprednisolone on the healing of jejunal anastomoses in rats. *Braz J Med Biol Res* 2001; 34: 519-23.
- 16 Narese L E, Mendes E F, Curi P R, Luchiari P H, Kobayasi S. Aparelho para medida da força de ruptura das anastomoses intestinais. *Rev Hosp Clin Fac Med S Paulo* 1987; 42: 204-8.
- 17 Petroianu A, Cavalcanti A M T, Alberti L R. Efeito da hidrocortisona sobre a pressão de ruptura dos diversos segmentos do tubo digestório de camundongo. *An Fac Med Univ Fed Pernamb* 2002; 47: 112-5.
- 18 Petroianu A, Souza SD, Martins SG, Alberti LR. Influência do ácido ascórbico em anastomoses e alças jejunais íntegras de rato. *Arq Gastroenterol* 2001; 38: 48 - 52.

-
- 19 Pereyra WJF, Cavalcanti AMT, Pereira LR, Petroianu A. Resistência das diferentes partes do tubo digestivo em presença ou não de hiperbilirrubinemia. *Rev Med Minas Gerais* 2000; 10: 18-21.
- 20 Petroianu A, Carvalho L B, Rocha K E D Barbosa A J A. Prevention of abdominal adhesions does not interfere with jejunal anastomosis healing. *J Surg Investig* 1999; 1: 149-56.
- 21 Arantes VN, Okawa RY, Silva AAD A, Barbosa AJA, Petroianu A. Efeito da metilprednisolona sobre a tensão anastomótica jejunal. *Arq Gastroenterol* 1994; 31: 97-102.
- 22 Petroianu A, Okawa R Y, Fagundes-Pereyra W J, Barbosa A J A. Influência da icterícia obstrutiva na cicatrização da pele e de anastomose jejunal em ratos. *Rev Col Bras Cir* 1999; 26: 269-73.
- 23 Veloso D F M. Repercussões orgânicas da orquiectomia total bilateral em rato. 2007. Dissertação (Mestrado em Cirurgia) - Universidade Federal de Minas Gerais, p. 62.
- 24 Borges E L, Pereira F K S, Alvarez-Leite J I, Alberti L R, Ferreira M A N D, Petroianu A. Shrimp diet and skin healing strength in rats. *Rev Nutr Campinas* 2007; 20: 257-63.
- 25 Salgado M I, Petroianu A, Burgarelli G L, Nunes C B, Alberti L R, Vasconcellos L S. Morfologia e resistência cicatriciais da parede abdominal após laparotomias longitudinal e transversal em coelhos. *Rev Col Bras Cir* 2007; 34: 232 - 6.
- 26 Zhong Z, Jones S, Thurman R G. Glycine minimizes reperfusion injury in a low-reflow liver perfusion model in rat. *Am J Physiol* 1996; 270: 332 - 8.

-
- 27 Ikejima K, Limuro Y, Forman D T, Thurman R G. A diet containing glycine improves survival in endotoxin shock in the rat. *Am J Physiol* 1996; 271: 97 - 103.
- 28 Rose ML, Madren J, Bunzendahl H. Diet Glycine inhibits the growth of B 16 melanoma tumors in mice. *Carcinogenesis* 1999; 20: 793 - 8.
- 29 Lacey J M, Wilmore D W. Is glutamine a conditionally essential amino acid? *Nutr Rev* 1990; 48: 297 - 309.
- 30 Waterlow J C. The requirements of adult man for indispensable amino acids. *Eur. J Clin Nutr* 1996; 50: S 151 - 76.
- 31 Hartmann F, Plauth M. Intestinal glutamine metabolism. *Metabolism* 1989; 38: 18 - 24.
- 32 Darmaun D, Humbert B. Does the fate of enterally administered glutamine depend on its molecular form? *Nutrition* 2000; 16: 1101-2.
- 33 Parry-Billings M, Leighton B, Dimitriadis G, DE Vasconcelos P R, Newsholme E A. Skeletal muscle glutamine metabolism during sepsis in the rat. *Int J Biochem* 1989; 21: 419-23.
- 34 Hammarqvist T F, Wernerma N J, Ali R, Decken A V D, 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: 455-61.
- 35 Van Der Hultst R R, Van Kreel B K, Von Meyenfeldt M F, Brummer R J., Aends J W, Deutz N E, Soeters P B. Glutamine and the preservation of gut integrity. *Lancet*; 1993, 341: 1363-5.

-
- 36 Souba W W, Herskowitz K, Salloum R M, Chen M K, Austgen T R. Gut glutamine metabolism. *J Parent Ent Nut* 1990; 14: 45-50S.
- 37 Souba W W , Klimberg V S, Hautamaki R D, Mendenhall W H, Bova F C, Howard R J, Bland K I, Copeland E M. Oral glutamine reduces bacterial translocation following abdominal radiation. *J Surg Res* 1990, 48:1-5.
- 38 Souba W W, Herskowitz K, Klimberg V S, Salloum R M, Plumley D A, Flynn T C, Copeland E M. The effects of sepsis and endotoxemia an gut glutamine metabolism. *Ann Surg* 1990 ; 211: 543-9.
- 39 Souba WW. Glutamine: a key substrate for the splanchnic bed. *Annu Rev Nutr* 1991; 11: 285-308.
- 40 Fong Y, Tracey KJ, Hesse DG, Albert JD, Barie PS, Lowry SF. Influence enterectomy on peripheral tissue glutamine efflux in critically ill patients. *Surgery* 1990; 107: 321-26.
- 41 Brown MG, Campbell GR, Rowlands BJ. Glutamine-enhanced enteral diet improves nitrogen balance without increasing portal ammonia. *Br J surg* 1991; 78: 1305-6.
- 42 Minami H, Morse EL, Adibi SA. Characteristics and mechanism or glutamine-dipeptide absorption in human intestine. *Gastroenterology* 1992; 103: 3-11.
- 43 Parry-Billings M, Baigrie R J, Lamont P M, Morris P J, Newsholme E A. Effects of major and minor surgery on plasma glutamine and cytokine levels. *Arch Surg* 1992; 127: 1237-40.
- 44 Schulman A S, Willcutts K F, Claridge J A, Evans H L, Radigan A E, O'Dounell K B, Claridge J A, Chong T W, McElearney S T, Smith R L, et al.

Does the addition of glutamine to enteral feeds affect patients mortality? Crit Care Med 2005; 33: 2501-6.

45 Marchini J S, Vannucchi H, Souza D A, Dutra-de-Oliveira J E. Uso clínico da glutamina. Rev Metabol Nutr 1997; 4: 10-7.

46 Wilmore DW. The effect of glutamine supplementation in patients following elective surgery and accidental injury. J Nutr 2001; 131: 2543 - 9S.

47 Newsholme P. Why is L-glutamine metabolism important to cells of the immune system in health, postinjury, surgery or infection? J Nutr 2001; 131: 2515 - 22S.

48 Mackay D, Miller A L. Nutritional support for wound healing. Altern Med Rev 2003; 8: 359-77.

49 Petersson B, Vinnars E, Walier S O, Wernerman J. Long-term changes in muscle free amino acid levels after elective abdominal surgery. Br J Surg, 1992, 79: 212-6.

50 Flaring U B, Rooyackers O E, Wernerman J Hammarqvist F. Glutamine attenuates post-traumatic glutathione depletion in human muscle. Clinical Science 2003; 104: 275-82.

51 Heyland DK, Novak F, Jain M, Su X, Suchner U. Should immunonutrition become routine in critically ill patients. JAMA 2001; 286: 949-53.

52 Boelens PG, Nijveldt RJ, Houdijk APJ, Reijner S, Van Leevwen PAM. Glutamine metabolism: nutritional and clinical significance. J Nutr 2001; 131: 2569S - 77S.

53 Caporossi C. Cicatrização da anastomose do esôfago sob a ação do hormônio de crescimento. [Tese de Doutorado] Faculdade de Medicina da USP; 2000, p. 124.

54 Kollmorgen C F, Nivatvongs S. Complications in colon and rectal surgery: Early diagnosis and Management. Rev Gastroenterol Mex 1996; 61: 93-9.

55 Merdad F, Hay J M, Fingerhut A, Yahchouchi E, Laborde Y, Pélissier E, Msika S, Flamat Y. Is prophylatic pelvic drainage useful after elective rectal or anal anastomosis? A multicenter controlled randomized trial. Surgery 1999; 125: 529-35.

56 Naresse L E, Mendes E F, Curi P R, Luchiari P H, Kobayse S. Aparelho para medida da força de ruptura das anastomoses intestinais. Rev Hosp Clin Fac Med S Paulo 1987; 42: 204-8.

57 Rotta C M – Estudo comparativo da anastomose colorretal em plano único contínuo extramucoso versus total [Dissertação Mestrado]. Hospital do Servidor Público do Estado de São Paulo; 1996. 73p.

58 Priolli D G – Cicatrização de anastomose cólica. Avaliação através da associação de métodos convencionais com análise de imagem auxiliada por computador [Dissertação de Mestrado]. Hospital do Servidor Público, São Paulo. 1999. 93p.

59 Souza C. Uso de adesivos biológicos em anastomoses intestinais [Tese de Doutorado, Minas Gerais]. Belo Horizonte; 1993.

60 Rosengerg D, Nasser A, Behmer A O, Regen J B, Deutch C R. Ação da betametasona nas anastomoses intestinais em um e dois planos de sutura com diferentes materiais. Rev Paul Med 1976; 87: 98-106.

-
- 61 Martins Jr A, Guimarães A S, Ferreira A L. Efeito dos corticosteróides na cicatrização de anastomoses intestinais. *Acta Cir Bras* 1992; 7: 28-30.
- 62 Kim C S, Buchmiller T L, Fonkalsrud E W, Phillips J D. Effect of Anabolic Steroids on chronic corticosteroids on intestinal anastomotic healing in rabbits. *Gynecol Obstret Surg* 1993; 176: 73-9.
- 63 Arantes V N, Okawa R Y, Fagundes-Pereira W J, Barbosa A J A, Petroianu A. A influência da icterícia obstrutiva na cicatrização de pele e anastomose jejunal em ratos. *Rev Col Bras Cir* 1999; 26: 269-73.
- 64 Rollandelli R H, Buckmire M A, Bernstein K A. Intravenous butyrate and healing of colonic anastomoses in the rat. *Dis Colon Rectum* 1997; 40: 67-70.
- 65 Del Rio J V, Beck D E, Apelka F G. Chronic perioperative steroids and colonic anastomotic healing in rats. *J Surg Res* 1996; 66: 138-42.
- 66 Medeiros A C, Chacon D A, Neto T A, Francisco P L, Azevedo I M , Trindade M C. Efeitos das vitaminas A e C em anastomoses Intestinais de ratos tratados com corticóide. *Acta Cir Bras* 2003; 18: 28-31.
- 67 Salgado M I. Estudo comparativo de cicatrização conduzida e enxerto de pele para tratamento de área cruenta cutânea, em coelhos [Dissertação de Mestrado]. Universidade Federal de Minas Gerais, 2004.
- 68 Braskén P. Healing of experimental colon anastomosis. *Eur J Surg* 1991; 566: 1-51.
- 69 Kumar V, Abbas A K, Fausto N, Robins e Conran. *Patologia: Bases Patológicas das Doenças*. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005.

70 Biondo-Simões MLP, Zimmermann E, Daher TS, Borsato KS, Noronha L. Efeitos da terapia de reposição hormonal na cicatrização de anastomoses de cólon. *Acta Cir Bras* 2005; 20: 237-42.

71 Arantes V N, Okawa R Y, Fagundes-Pereira W J, Barbosa A J A, Petroianu A. A influência da icterícia obstrutiva na cicatrização de pele e anastomose jejunal em ratos. *Rev Col Bras Cir* 1999; 26: 269-73.

72 Thurmon J C, Tranquilli W J, Benson GJ. Lumb e Jones. *Veterinary anesthesia*. 3. ed. Philadelphia: W.B. Sanders, 1996. p. 862-82.

73 Rotta C M. – Influência do preparo intra-operatório do cólon na anastomose colônica. [Tese Doutorado - Hospital do Servidor Público estadual – São Paulo], 1997, p. 76.

74 Bailar J C, Mosteller F. *Medical uses of statistics*. 2nd edition. Massachussets Medical Society, 1992.

75 Petroianu A. Aspectos éticos na pesquisa em animais. *Acta Cir Bras* 1996; 11: 157 – 64.

76 Salgado M I, Petroianu A, Burgarelli G L, Barbosa A J A, Alberti L R. Cicatrização conduzida e enxerto de pele parcial no tratamento de feridas. *Rev Assoc Med Bras* 2007; 53: 80-4.

77 Bruck R, Wardi J, Aeed H, Avnil Y, Shirin H, Avinovich I, Shahmirov M, Herskoviz R. Glycine modulates cytokine secretion inhibits hepatic damage and improves survival in a model of endotoxemia in mice. *Liver internat* 2003; 23: 276-82.

78 Yang S, Koo DJ, Chaudry IH, Wang P. Glycine attenuates hepatocellular depression during early sepsis and reduces sepsis-induced mortality. *Crit Care Med* 2001; 29: 1201 – 6.

79 Exner R, Tamandl D, Goltzinger P, Muhlbedeck M, Fuegger R, Santner T, Spittler A, Roth E. Perioperative Gly-Gln infusion diminishes the surgery-induced period of immunosuppression. *Ann Surg* 2003; 1:110-5.

80 Gneaga K F, Matos D, Castro AA, Atallah AN, Wille-Jorgensen P. Mechanical bowel preparation for elective colorectal surgery. *Cochrane Database Syst Rev* 2003:CD001544.

81 Wille-Jorgensen P, Gneaga K F, Castro AA, Matos D. Clinical value of preoperative mechanical bowel cleansing in elective colorectal surgery. *Dis Colon Rectum* 2003; 46: 1013-20.

82 Platell C, Hall J. What is the role of mechanical bowel preparation in patients undergoing colorectal surgery? *Dis Colon Rectum* 1998, 41: 875- 82.

83 Ikeuchi D, Onodera H, Aung T, Kan S, Kawamoto K, Imamura M, Maetani S. Correlation of tensile strength with bursting pressure in the evaluation of intestinal anastomosis. *Dig Surg* 1999; 16: 478-85.

84 Mochizuki M, Wu F C, Coy C S R, Ayrizono M L S, Goes J R N, Fagundes J J. Efeito de aderências dirigidas em anastomoses cólicas isquêmicas em ratos. *Acta Cir Bras.* 2005; 20: 247-51.

12. ANEXOS

Tabela A1 - Ração para coelho, componentes por quilograma do produto.

Componentes	Quantidade
Carbonato de cálcio	Não mencionado
Farelo de soja	Não mencionado
Farelo de trigo	Não mencionado
Milho integral moído	Não mencionado
Cloreto de sódio	Não mencionado
Feno de Coast Cross	Não mencionado
Melaço	Não mencionado
Ácido Pantotênico	1,27 mg
Cobre	2,75 mg
Ferro	28 mg
Selênio	0,06 mg
Vitamina B12	1 mg
Vitamina E	5 mg
Vitamina P	2,96 mg
Cobalto	0,04 mg
Iodo	0,52 mg
Manganês	28,5 mg
Vitamina A	3.750 UI
Vitamina D3	700 UI
Vitamina K	0,25 mg
Zinco	27,3 mg

Não contém glicina.

Não contém glutamina.

Tabela A2: Medida da pressão de ruptura, epitelização da mucosa, intensidade de fibroplasia e dimensões da área (Comprimento X Largura) de cicatriz dos coelhos do Grupo 1 (glutamina no pré e pós-operatório).

Coelho	Pressão de ruptura (mmHg)	Epitelização da mucosa	Tecido de regeneração (fibroplasia)	Cicatriz: Comprimento X Largura - (área em mm²)
Coelho 1	130	Pequena	Moderada	11 X 1,2 (13,2)
Coelho 2	175	Moderada	Moderada	16 X 2 (32)
Coelho 3	130	Pequena	Moderada	4 X 5,5 (22)
Coelho 4	130	Pequena	Moderada	15 X 5 (75)
Coelho 5	230	Pequena	Moderada	7 X 3 (21)
Coelho 6	190	Pequena	Pequena	10 X 4 (40)
Coelho 7	145	Moderada	Moderada	13 X 5 (65)

Tabela A3 - Medida da pressão de ruptura, epitelização da mucosa, intensidade de fibroplasia e dimensões da área (Comprimento X Largura) de cicatriz dos coelhos do Grupo 2 (glicina no pré e pós-operatório).

Coelho	Pressão de ruptura (mmHg)	Epitelização da mucosa	Tecido de regeneração (fibroplasia)	Cicatriz: Comprimento X Largura - (área em mm²)
Coelho 1	> 300	Pequena	Grande	20 X 6 (120)
Coelho 2	175	Moderada	Pequena	5,5 X 3,1(16,5)
Coelho 3	230	Pequena	Grande	18 X 4,8 (86,4)
Coelho 4	250	Pequena	Pequena	9,5 X 3,3 (31,3)
Coelho 5	150	Pequena	Moderada	9 X 2 (18)
Coelho 6	190	Moderada	Pequena	7 X 2,9 (20,3)
Coelho 7	235	Pequena	Moderada	5 X 4,2 (21)

Tabela A4 - Medida de pressão de ruptura, epitelação da mucosa, intensidade de fibroplasia e dimensões da área (Comprimento X Largura) de cicatriz dos coelhos do Grupo 3 (glutamina no pós-operatório).

Coelho	Pressão de ruptura (mmHg)	Epitelização da mucosa	Tecido de regeneração (fibroplasia)	Cicatriz: Comprimento X Largura - (área em mm ²)
Coelho 1	50	Grande	Pequena	2 X 1(2)
Coelho 2	35	Moderada	Pequena	3 X 3 (9)
Coelho 3	170	Pequena	Pequena	5 X 5 (25)
Coelho 4	150	Pequena	Moderada	4 X 4,4 (17,6)
Coelho 5	150	Moderada	Grande	5 X 3,7 (18,5)
Coelho 6	160	Moderada	Grande	6,5 X 4,4 (28,6)
Coelho 7	180	Pequena	Grande	4 X 2 (8)

Tabela A5 - Medida da pressão de ruptura, epitelação da mucosa, intensidade de fibroplasia e dimensões da área (Comprimento X Largura) de cicatriz dos coelhos do Grupo 4 (glicina no pós-operatório).

Coelho	Pressão de ruptura (mmHg)	Epitelização da mucosa	Tecido de regeneração (fibroplasia)	Cicatriz: Comprimento X Largura - (área em mm ²)
Coelho 1	190	Pequena	Grande	17 X 4 (68)
Coelho 2	260	Pequena	Pequena	10 X 4,5 (45)
Coelho 3	130	Pequena	Pequena	5 X 2 (10)
Coelho 4	240	Pequena	Moderada	7 X 1,5 (10,5)
Coelho 5	260	Moderada	Grande	11 X 4,6 (50,6)
Coelho 6	185	Moderada	Pequena	6 X 3,4 (20,4)
Coelho 7	180	Pequena	Pequena	6 X 3,18 (22,8)

Tabela A6 - Medida de pressão de ruptura, epitelização da mucosa, intensidade de fibroplasia e dimensões da área (Comprimento X Largura) de cicatriz dos coelhos do Grupo 5 (controle).

Coelho	Pressão de ruptura(mmHg)	Epitelização da mucosa	Tecido de regeneração (fibroplasia)	Cicatriz: Comprimento X Largura - (área em mm ²)
Coelho 1	70	Pequena	Moderada	8 X 4 (32)
Coelho 2	190	Pequena	Moderada	11 X 3,5 (38,5)
Coelho 3	30	Moderada	Pequena	4,5 X 2 (9)
Coelho 4	30	Pequena	Pequena	6 X 2,5 (15)
Coelho 5	205	Pequena	Moderada	11 X 4,6 (506)
Coelho 6	185	Pequena	Pequena	6 X 3,4 (20,4)
Coelho 7	190	Pequena	Pequena	6 X 3,8 (20,4)

Tabela A7 - Peso corporal (g) e concentração de albumina sérica (g/dl), dos coelhos do Grupo 1 (glutamina pré e pós-operatório) no dia da operação e no sexto dia pós-operatório.

Coelho	Peso		Albumina	
	Pré-operatório	Pós-operatório	Pré-operatório	Pós-operatório
1	2.540	2.325	3,4	2,7
2	2.450	2170	3,1	2,7
3	2.630	2255	3,4	3,0
4	2.380	2070	3,3	2,6
5	2.725	2415	4,3	2,7
6	2.570	2400	3,2	2,4
7	2.410	2120	3,0	2,7

Tabela A8 - Peso corporal (g) e concentração da albumina sérica (g/dl), dos coelhos do Grupo 2 (glicina pré e pós-operatório) no dia da operação e no sexto dia pós-operatório.

Coelho	Peso		Albumina	
	Pré-operatório	Pós-operatório	Pré-operatório	Pós-operatório
1	2.420	2.270	3,3	2,5
2	2.890	2.770	3,7	Hemólise
3	2.420	2.250	3,3	Hemólise
4	2.230	1.940	3,3	2,4
5	2.850	2.570	3,1	2,8
6	2.590	2.345	3,2	2,7
7	2.680	2.530	3,5	2,7

Tabela A9 - Peso corporal (g) e concentração da albumina sérica (g/dl), dos coelhos do Grupo 3 (glutamina pós-operatório), no dia da operação e no sexto dia pós-operatório

Coelho	Peso		Albumina	
	Pré-operatório	Pós-operatório	Pré-operatório	Pós-operatório
1	2.555	2.430	3,4	2,9
2	2.310	2.040	4,1	2,5
3	2.150	1.840	3,1	2,9
4	2.080	2.060	2,9	2,6
5	2.170	2.070	3,0	2,6
6	2.490	2.320	3,3	2,4
7	2.330	2.160	3,7	2,7

Tabela A10 - Peso corporal (g) e concentração da albumina sérica (g/dl), dos coelhos do Grupo 4 (glicina pós-operatório), no dia da operação e no sexto dia pós-operatório.

Coelho	Peso		Albumina	
	Pré-operatório	Pós-operatório	Pré-operatório	Pós-operatório
1	2.190	1.890	3,2	3,0
2	2.650	2.310	3,0	2,7
3	2.110	1.900	2,5	2,5
4	2.390	2.120	3,0	3,0
5	2.290	2.200	3,6	2,6
6	2.530	2.270	3,1	2,6
7	2.380	2.110	3,0	2,8

Tabela A11 - Peso corporal (g) e concentração albumina sérica (g/dl), dos coelhos do Grupo 5 (controle), no dia da operação e no sexto dia pós-operatório.

Coelho	Peso		Albumina	
	Pré-operatório	Pós-operatório	Pré-operatório	Pós-operatório
1	2.210	1.950	3,1	2,9
2	2.290	2.090	3,1	2,9
3	2.520	2.225	3,3	3,1
4	2.390	2.260	3,4	2,7
5	2.170	1.960	3,0	2,9
6	2.350	2.180	3,2	2,8
7	2.280	2.040	3,4	2,7

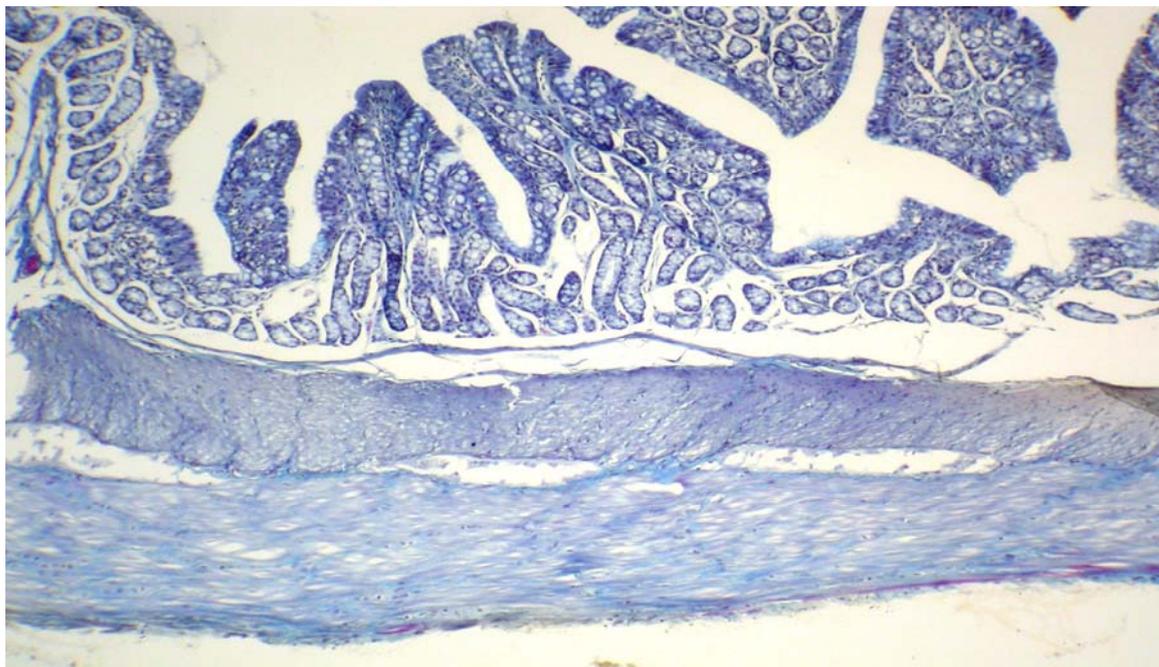


Figura A1: Fotomicrografia mostra corte histológico de cólon íntegro. Tricrômio de Masson – 50X.



Figura A2: Fotomicrografia mostra corte histológico de cólon íntegro. *Sirius red* – 50X.