

Evento: XXV Seminário de Iniciação Científica

O TRATAMENTO COM GLUTAMINA EVITA A DIMINUIÇÃO DA CONTAGEM DE LEUCÓCITOS TOTAIS, MESMO COM AUMENTO DE PESO DO BAÇO NA SEPSE¹

TREATMENT WITH GLUTAMINE AVOIDS THE DECREASE OF TOTAL LEUKOCYTE COUNT, EVEN WITH SEPTIC PUMP WEIGHT INCREASE

Maicon Machado Sulzbacher², Analú Bender Dos Santos³, Renan Daniel Bueno Basso⁴, Mirna Stela Ludwig⁵, Thiago Gomes Heck⁶

¹ Trabalho de pesquisa realizado pelo Grupo de Pesquisa em Fisiologia da Unijuí (GPeF)

² Grupo de Pesquisa em Fisiologia - GPeF Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral a Saúde (PPGAIS) UNIJUI/UNICRUZ

³ Grupo de Pesquisa em Fisiologia - GPeF Mestranda Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral a Saúde (PPGAIS) UNIJUI/UNICRUZ

⁴ Acadêmico do curso de Educação Física Grupo de Pesquisa em Fisiologia ? GPeF Bolsista de Iniciação Científica PROBIC/FAPERGS

⁵ Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GPeF) Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral a Saúde (PPGAIS) Departamento de Ciências da Vida (DCVida) Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUI) 45169632053

⁶ Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GPeF) Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral a Saúde (PPGAIS) Departamento de Ciências da Vida (DCVida) Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUI)

Introdução

A sepse é uma doença caracterizada por uma infecção microbiana a nível sistêmico ocasionando disfunções ao organismo, com elevada taxa de mortalidade (55%) (ILAS, 2015) e custos hospitalares. Estima-se um gasto de R\$ 38.867,60 por paciente em hospitais brasileiros, sendo que a maior parte dos recursos são investidos em pacientes que evoluem a óbito (BARRETO et al., 2016).

A suplementação nutricional via enteral na sepse tem suma importância, já que, além de fornecer substrato energético para o organismo e adequação às metas calóricas e proteicas, evita complicações diminuindo o tempo de internação (PASINATO et al., 2013). A mucosa intestinal atua como barreira física e como sítio inicial da ativação da resposta imune aos patógenos presentes na luz intestinal, dificultando sua disseminação para corrente sanguínea. Estudos com a suplementação nutricional parenteral na sepse têm sido associados com maior incidência de translocação bacteriana intestinal, certo grau de disfunção imune, e dificuldade para o controle glicêmico, quando comparada com a nutrição enteral (VELASCO, 2007).

A glutamina é essencial para a manutenção fisiológica do organismo, reconhecida como um aminoácido de crucial importância para a sobrevivência, desenvolvimento e metabolismo celular (CURI et al., 2016; LEITE et al., 2016). Além disso, ainda utilizada como substrato para a

Evento: XXV Seminário de Iniciação Científica

gliconeogênese (produção de glicose) hepática e renal (CURI, 2009). Em quadros infecciosos ocorre diminuição dos níveis plasmáticos e teciduais de glutamina (ROGERO e TIRAPEGUI, 2003), indicando a necessidade de suplementação deste nutriente. Existe interesse da comunidade científica em estudar terapia nutricional com o aminoácido glutamina, devido ao seu potencial imune estimulador, sendo, portanto abordado como alternativa no tratamento da sepse (SULZBACHER et al., 2012).

Recentemente foi mostrado que a suplementação com glutamina intravenosa foi capaz de melhorar as condições da resposta imune e diminuir a apoptose da mucosa intestinal em ratos submetidos a sepse (FAN et al., 2015). Em contrapartida estudo realizado com pacientes críticos em UTI não evidenciou benefícios em pacientes suplementados com glutamina (ANDREWS et al., 2011). Além disso, a mortalidade não diferiu com o uso de glutamina em suplementação enteral em pacientes com sepse (CONEJERO et al., 2002) e não resultou na redução do tempo de permanência em UTI, assim como não modificou a evolução dos casos clínicos (HALL et al., 2003).

Um estudo experimental realizado com camundongos, submetidos a sepse por peritonite e suplementados via enteral através de gavagemorogástrica com L-Glutamina, na dose de 1g/kg uma vez ao dia, demonstrou propriedades antioxidantes desse aminoácido, alterando a expressão de proteínas citoprotetoras como as proteínas de choque térmico (HSP) (CRUZAT et al., 2014). Porém, ainda não existem estudos que demonstrem o efeito da suplementação com glutamina via oral na doença, após o início de uma fase de disfunção sistêmica quanto seus efeitos contra o hiperesplenismo e leucopenia.

Objetivo

Avaliar o efeito da suplementação com L-Glutamina via enteral sobre o peso do baço e contagem de leucócitos totais em modelo experimental de sepse.

Metodologia

Foram utilizados 13 camundongos da linhagem B6129SF2/J (B6), provenientes do biotério da UNIJUI, com 90 dias de idade, pesando 30 ± 2 g, divididos em quatro grupos: Controle (C, n= 4), Sepse (S, n= 3), Glutamina (GLN n= 3) e Sepse+Glutamina (S+GLN, n= 3). O experimento foi realizado no Laboratório de Ensaio Biológicos da UNIJUI (LEBio), aprovado conforme Protocolo do CEUA n°47/2016.

Os animais do grupo sepse receberam administração intraperitoneal de solução fecal 20% em uma dose de 5 μ L/g de peso corporal, enquanto os animais do grupo C receberam solução fisiológica 0,9% no mesmo volume conforme estudo piloto. Os grupos C+GLN e S+GLN foram suplementados com L-Glutamina (1g/Kg por dia), por via oral (gavagem orogástrica), 3 vezes por dia com intervalos de 4 horas (9:30; 13:30 e 17:30 horas), iniciando 2 horas após a administração da solução fecal 20% (CRUZAT et al., 2014).

Foi coletado 20 μ L de sangue total de cada animal em microtubo contendo 400 μ L de líquido de Turck, e a seguir, homogeneizado (girando o tubo em ambos os sentidos lentamente). Após 5

Evento: XXV Seminário de Iniciação Científica

minutos e foi realizada a contagem dos leucócitos dos quatro quadrantes laterais (inferiores e superiores) da câmara de Neubauer e multiplicado o resultado por 50. Após eutanásia o tecido esplênico foi pesado em balança analítica

Análise estatística

Os resultados foram expressos em média \pm desvio padrão e analisados por ANOVA de uma via seguido de Tukey, e ANOVA de medidas repetidas quando aplicável, considerando nível de significância estatística de 5% ($p < 0,05$).

Resultados e Discussão

Os animais submetidos a sepse apresentaram aumento no peso do baço ao final do experimento quando comparado aos grupos C e C+GLN. Os animais com sepse suplementados com glutamina apresentaram aumento de peso do baço em relação a todos os demais grupos (Figura 1). Em situações de hiperesplenismo, o aumento do volume do baço induz a um aumento da retenção de 5,5 a 20 vezes no número de células sanguíneas no baço, onde ocorre fagocitose destas, resultando em diminuição da contagem periférica de leucócitos, o que foi verificado em nosso experimento no grupo sepse (Figura 2) (YUNFU et al., 2016).

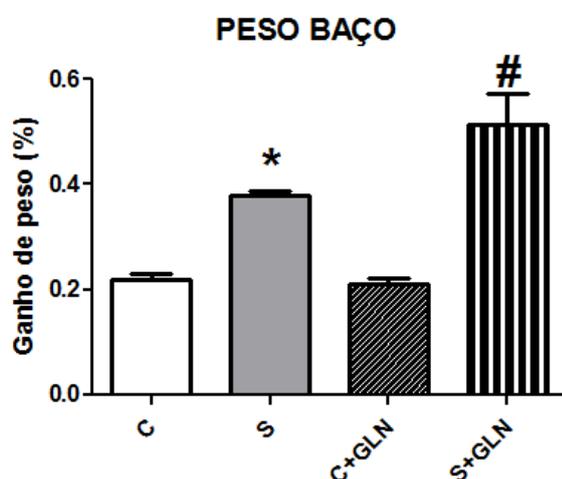


Figura 1: Percentual do ganho de peso do baço em relação ao peso corporal após 48 horas do protocolo de indução de sepse por peritonite com solução fecal 20%, e suplementação com L-Glutamina (1g/Kg). * $P < 0,05$, C e C+GLUTAMINA, # $P < 0,05$, C, S e C+GLUTAMINA, ANOVA de uma via, seguido de Teste de Tukey de múltiplas comparações.

A glutamina é clivada por meio da atividade da enzima glutaminase fosfato-dependente que se encontram em grande atividade em mitocôndrias de células de órgãos linfóides como baço (ARDAWI; NEWSHOLME, 1985). Portanto com a suplementação com este aminoácido promove

Evento: XXV Seminário de Iniciação Científica

maior demanda ao tecido esplênico, o que estaria associado a um aumento deste órgão com consequente elevação do seu peso, assim como mostra um estudo realizado com aves saudáveis suplementadas com glutamina, obtendo aumento do peso do mesmo tecido, com elevação da atividade imune (SAKAMOTO et al., 2006).

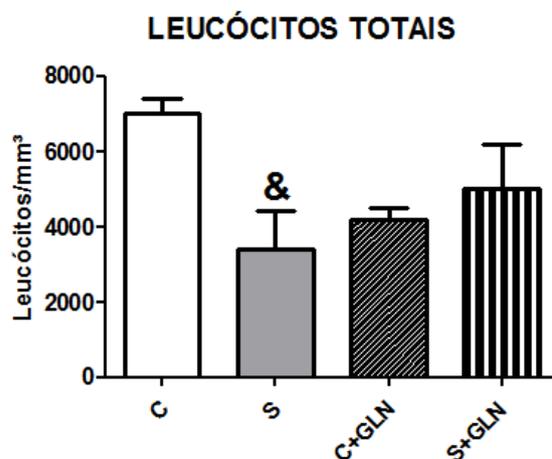


Figura 2. Avaliação da contagem de leucócitos totais após 48 horas do protocolo de indução de sepse por peritonite com solução fecal 20%, e suplementação com L-Glutamina (1g/Kg). ^a $P < 0,05$, S em relação ao C, ANOVA de uma via, seguido de Teste de Tukey de múltiplas comparações, & = $P < 0,05$.

Os animais S+GLN não apresentaram leucopenia. Tendo em vista que a glutamina é utilizada como fonte de energia por células do sistema imune, potencializando-as, tendo importante papel na proliferação de linfócitos, na produção de citocinas e atividade fagocitária de macrófagos e neutrófilos, a suplementação com este aminoácido pode ser considerada um fator essencial para a defesa do organismo no quadro de sepse (AKAGI et al., 2013; NEWSHOLME, 2001).

Conclusão

O tratamento com glutamina foi capaz de evitar a diminuição da contagem de leucócitos totais apesar do aumento de peso do baço, podendo ser útil ao sistema imunológico no quadro de sepse.

Referências:

AKAGI, R. et al. Glutamine protects intestinal barrier function of colon epithelial cells from ethanol

Evento: XXV Seminário de Iniciação Científica

by modulating Hsp70 expression. **Pharmacology**, v. 91, n. 1-2, p. 104-11, jan. 2013.

ARDAWI, M. S.; NEWSHOLME, E. A. Metabolism in lymphocytes and its importance in the immune response. **Essays in biochemistry**, v. 21, p. 1-44, 1985.

CILLO, D. M.; JUNIOR, L. A. PERDA RÁPIDA DE PESO E SISTEMA IMUNE: RELAÇÃO COM GLUTAMINA PLASMÁTICA E EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE GLUTAMINA. [s.d.].

CRUZAT, V. F. et al. Oral supplementations with free and dipeptide forms of l-glutamine in endotoxemic mice: Effects on muscle glutamine-glutathione axis and heat shock proteins. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 25, n. 3, p. 345-352, 2014.

LAVIANO, A. et al. Glutamine supplementation favors weight loss in nondieting obese female patients. A pilot study. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 68, n. 11, p. 1264-1266, 2014.

NEWSHOLME, P. Why is L-glutamine metabolism important to cells of the immune system in health, postinjury, surgery or infection? **The Journal of nutrition**, v. 131, n. 9 Suppl, p. 2515S-22S; discussion 2523S-4S, set. 2001.

OPARA, E. C. et al. L-glutamine supplementation of a high fat diet reduces body weight and attenuates hyperglycemia and hyperinsulinemia in C57BL/6J mice. **The Journal of nutrition**, v. 126, n. 1, p. 273-9, jan. 1996.

SAKAMOTO et al. Influence of Glutamine and Vitamin E on the Performance and the Immune Responses of Broiler Chickens. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 8, n. 4, p. 243-249, 2006.

YAEGAKI, M. et al. Change in the capability of reactive oxygen species production by neutrophils following weight reduction in female judoists. **British Journal of Sports Medicine**, v. 41, n. 5, p. 322-327, 2007.

YUNFU et al. Hypersplenism : History and current status (Review). **EXPERIMENTAL AND THERAPEUTIC MEDICINE**, v. 12, p. 2377-2382, 2016.