

ELISVÂNIA FREITAS DOS SANTOS

**AVALIAÇÃO DA SUPLEMENTAÇÃO DE POLIDEXTROSE NO
METABOLISMO DE FERRO, NA MORFOLOGIA DO INTESTINO E
ALTERAÇÕES HEPÁTICAS APÓS A DERIVAÇÃO JEJUNO-ILEAL.
ESTUDO EXPERIMENTAL.**

CAMPINAS

2011



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Ciências Médicas

**AVALIAÇÃO DA SUPLEMENTAÇÃO DE POLIDEXTROSE NO
METABOLISMO DE FERRO, NA MORFOLOGIA DO INTESTINO E
ALTERAÇÕES HEPÁTICAS APÓS A DERIVAÇÃO JEJUNO-ILEAL.
ESTUDO EXPERIMENTAL.**

ELISVÂNIA FREITAS DOS SANTOS

Tese de Doutorado apresentada à Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP para obtenção do Título de Doutor em Ciências, área de concentração em Fisiopatologia Cirúrgica, sob a orientação do Prof. Dr. Nelson Adami Andreollo.

Campinas
Unicamp
2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
ROSANA EVANGELISTA PODEROSO – CRB8/6652
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP

Sa59a Santos, Elisvânia Freitas dos, 1981 -
Avaliação da suplementação de polidextrose no
metabolismo de ferro, na morfologia do intestino e
alterações hepáticas após a derivação jejuno-ileal.
Estudo experimental. / Elisvânia Freitas dos
Santos. -- Campinas, SP : [s.n.], 2011.

Orientador : Nelson Adami Andreollo
Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de
Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Derivação jejuno-ileal. 2. Cirurgia. 3.
Alimentos funcionais. 4. Prebióticos. 5. Anemia.
I. Andreollo, Nelson Adami. II. Universidade
Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências
Médicas. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em Inglês: Evaluation of supplementation polydextrose in iron metabolism, morphology in the intestine and liver changes after jejunoileal bypass. Experimental study

Palavra-chave em Inglês:

Jejunoileal bypass

Surgery

Funcional foods

Prebiotics

Anemia

Área de concentração: Fisiopatologia Cirúrgica

Titulação: Doutor em Ciências

Banca examinadora:

Nelson Adami Andreollo [Orientador]

Luiz Roberto Lopes

Valdemiro Carlos-Sgarbieri

José Luiz Braga de Aquino

Vânia Aparecida Leandro Merhi

Data da defesa: 17-11-2011

Programa de Pós-Graduação: Ciências da Cirurgia

Banca Examinadora da Defesa de Doutorado
Elisvania Freitas dos Santos

Orientador: Prof. Dr. Nelson Adami Andreollo

Membros:

1. Prof. Dr. Nelson Adami Andreollo -

Nelson Adami Andreollo

2. Prof. Dr. Valdemiro Carlos Sgarbieri -

Valdemiro Carlos Sgarbieri

3. Prof. Dr. Luiz Roberto Lopes -

Luiz Roberto Lopes

4. Profa. Dra. Vânia Aparecida Leandro Merhi -

Vânia Aparecida Leandro Merhi

5. Prof. Dr. José Luiz Braga de Aquino -

José Luiz Braga de Aquino

Curso de Pós-Graduação em Ciências da Cirurgia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 17/11/2011

“Que Deus me dê à serenidade para aceitar as coisas que não posso mudar, coragem para mudar as que posso e sabedoria para distinguir entre elas.”

São Francisco de Assis

“O saber a gente aprende com os mestres e os livros. A Sabedoria se aprende com a vida e com os humildes.”

“Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina...”

Ana Lins dos Guimarães Peixoto Bretas Brandão

"Cora Coralina"

Aos meus pais Lázaro e Ivonicia, pelo apoio, compreensão e carinho;

Ao Prof. Nelson Adami Andreollo, pelo carinho e excelente orientação em todos os momentos;

Ao Prof. Celio Kenji Miyasaka, pela amizade, pela atenção e ensinamentos;

E em especial ao meu marido Marcelo, por fazer parte da minha vida, por fazer cada momento muito mais feliz e agradável e também pelo amor incondicional, compreensão, companheirismo, apoio, carinho, respeito, e incentivo constante em todos os momentos. Com paciência e tolerância muito me ajudou nos momentos difíceis desta caminhada...

Dedico.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao meu orientador **Professor Dr. Nelson Adami Andreollo**, pelo exemplo de seriedade e conduta científica, pela atenção e orientação segura durante todos esses anos, pelo apoio e confiança no meu trabalho.

Ao **Professor Dr. Celio Kenji Miyasaka**, meu co-orientador, que permitiu que meus sonhos se concretizassem abrindo as portas da Unicamp. Muito obrigada pelo apoio e conselhos inestimáveis e pela assessoria na realização deste trabalho.

Ao meu amado marido **Marcelo**, pelo amor, companhia, incentivo, compreensão e principalmente paciência. Também não poderia deixar de agradecer à grande ajuda no laboratório. Quantos quilos de ração peletizamos juntos.

AGRADECIMENTOS

Ao final deste trabalho, gostaria de prestar meus mais sinceros agradecimentos a todas as pessoas que contribuíram, direta ou indiretamente, para a sua concretização.

A Deus pela vida e pela conquista de mais essa etapa.

Ao meu pai Lázaro e à minha mãe Ivonicia, pelo exemplo de dedicação, amor, apoio, incentivo e confiança.

Aos meus irmãos, Elisângela e Elivander, pelo carinho e atenção.

Aos meus cunhados, sobrinhos, pelo constante apoio e carinho.

Ao meu querido vovô Izidório que sempre me incentivou.

A todos os meus familiares, por toda a amizade e apoio.

À **UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS - UNICAMP**, pela oportunidade de realizar este sonho.

A FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO- FAPESP pela bolsa de doutorado e auxílio pesquisa, viabilizando a execução deste trabalho.

Com muito carinho e respeito, agradeço a todos os animais, utilizados nessa pesquisa. Sem eles, não teria feito nada!

A Faculdade de Ciências Médicas - FCM, especialmente ao Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental (NMCE) pela viabilização da realização da parte experimental deste projeto.

A Marina Rachel Araújo, bióloga do NMCE da Faculdade de Ciências Médicas (FCM), pela valiosa colaboração, incentivo, auxílio e pelo apoio fundamental à realização desta Tese.

À minha companheira e amiga Joice Lopez Cesarino, que esteve ao meu lado durante a execução deste trabalho.

A Cristina Tanikawa pelo carinho, auxílio e com quem aprendi muito. Obrigada por tudo.

A Rosana pela valiosa colaboração na realização das lâminas histológicas desse projeto.

A Dra. Beatriz Frolini pela realização das análises histopatológicas deste trabalho.

A Maria Cristina Resck pela ajuda com as fotos desse trabalho.

Ao William Adalberto Silva, Ana Cristina de Moraes, Waldemir Benedito Costa e Miguel Luiz Cândido do laboratório de Cirurgia do NMCE pela amizade, companheirismo, pela imensa e valiosa ajuda durante a realização deste trabalho e com quem aprendi muito.

Ao Sr. José, Luiz, Antônio, Carol, Joice e a todos do Biotério do NMCE, pela valiosa colaboração e auxílio nos cuidados com os animais na fase experimental deste projeto.

A todos os funcionários do NMCE muito obrigada.

Aos funcionários da Coordenadoria de Pós-Graduação, em especial à Paula, pelos esclarecimentos e ajuda.

Ao laboratório de Hematologia (Hemocentro-UNICAMP) pela realização da análise do hemograma desta pesquisa. Em especial a Mônica Almeida Falconi.

Ao laboratório de Hematologia (Hospital das Clínicas) pela realização das análises hematológicas deste trabalho. Em especial a Gisélia Aparecida Freire Maia de Lima e a Coordenadora da Divisão de Patologia Clínica Profa. Dra. Helena Zerlotti Wolf Grotto.

Ao laboratório “Biominais Análises Químicas Ltda” pela colaboração nas análises de ferro desta pesquisa. Em especial a Rosângela Costa Massarotto Baptista, Adriane Castro Pereira e Cristiane Garcia da Silva.

Aos membros da banca examinadora, que contribuíram para o aprimoramento do trabalho através de correções e sugestões.

Aos meus amigos, por me apoiarem e entenderem minha ausência.

A todas as pessoas que não foram mencionadas e que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Enfim, a todos os amigos que fiz durante esta caminhada.

SUMÁRIO

	Pág.
LISTA DE ABREVIATURAS.....	XXV
LISTA DE TABELAS	XXIX
LISTA DE FIGURAS.....	XXXIII
RESUMO.....	XXXIX
ABSTRACT.....	XLI
1 INTRODUÇÃO	43
2 REVISÃO DE LITERATURA	47
2.1 Obesidade/Aspectos gerais.....	47
2.2 Ferro.....	50
2.2.1 Mecanismos de absorção, fisiologia e metabolismo do ferro.....	51
2.2.2 Deficiência de ferro	55
2.3 Alimentos funcionais e prebióticos	58
2.3.1 Polidextrose	59
3 OBJETIVOS.....	65
3.1 Objetivo Geral	65
3.2 Objetivos Específicos	65
4 MATERIAIS E MÉTODOS	67
4.1 Ensaio Biológico.....	67
4.1.1 Animais para experimentação	67
4.1.2 Condições experimentais	67
4.1.3 Delineamento experimental	68
4.2 Procedimento cirúrgico.....	71
4.2.1 Materiais	77

4.2.2 Cuidados pós-operatórios	78
4.3 Dietas Experimentais.....	78
4.3.1 Acompanhamento do consumo de dieta e ganho de peso dos animais.....	84
4.3.2 Composição centesimal das dietas.....	85
Dieta comercial	85
Dieta formulada	86
4.4 Métodos analíticos.....	87
4.4.1 Determinação da composição centesimal da dieta	87
4.4.2 Ferro da dieta.....	88
4.4.3 Ferro fecal.....	88
4.4.4 Absorção aparente.....	88
4.4.5 Hemograma (Hematócrito, hemoglobina, volume corpuscular médio e hemoglobina corpuscular média).....	89
4.4.6 Coleta das amostras de sangue para dosagens séricas	90
4.4.7 Ferro sérico.....	90
4.4.8 Capacidade de ligação do ferro insaturada / <i>Unsaturated iron binding capacity</i> (UIBC)....	90
4.4.9 Capacidade total de ligação de ferro/ <i>Total iron-binding capacity</i> (TIBC).....	91
4.4.10 Índice da saturação de transferrina (IST)	91
4.4.11 Ferritina sérica	91
4.4.12 Pesagem do fígado e Concentração de ferro do fígado	92
4.4.13 Histologia do fígado e de segmentos do intestino	92
4.5 Análise estatística.....	95
5 RESULTADOS.....	97
5.1 Monitoramento do peso dos animais.....	97
5.2 Peso dos animais	98
5.3 Dosagens séricas	100
5.4 Hemograma.....	101
5.5 Absorção aparente	109
5.6 Análises no fígado.....	112
5.7 Histologia do Fígado.....	114
5.8 Histologia do Intestino	120
6 DISCUSSÃO	125
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	143

8 CONCLUSÕES	145
9 REFERÊNCIAS.....	147
10 ANEXOS E APÊNDICES	159
Anexo 1- Protocolo do Comitê de Ética de Experimentação Animal	159
Apêndice 1- Análise Estatística	160

LISTA DE ABREVIATURAS

UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas
NMCE	Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental
FCM	Faculdade de Ciências Médicas
FAPESP	Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo
CEEA	Comitê de Ética em Experimentação Animal
CEMIB	Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica
SPF	Livres de patógenos específicos
FE	Ferro
IMC	Índice de massa corpórea
HE	Hematoxilina Eosina
POLI	Polidextrose
AGCC	Ácidos graxos de cadeia curta
ANOVA	Análise de variância
DP	Desvio padrão
p	Nível de significância estatística
HCM	Hemoglobina corpuscular média
VCM	Volume corpuscular médio
CHCM	Concentração de hemoglobina corpuscular média
UIBC	Capacidade de ligação de ferro insaturado
TIBC	Capacidade total de ligação de ferro

IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IST	Índice de saturação de transferrina
BPD	Derivação biliopancreática
Et al	E colaboradores
C	Grupo controle
G	Grupo operado
µg/dL	Micrograma por decilitro
µg/L	Micrograma por litro
mg	Miligrama
g/dL	Gramas por decilitro
fL	Fentolitros
pg	Picogramas
%	Porcentagem
gI	Gramas
Kcal	Quilocalorias
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
AIN-G	Dieta da American Institute of Nutrition para ratos em crescimento
AIN-M	Dieta da American Institute of Nutrition para ratos em manutenção

LISTA DE TABELAS

	Pág.
Tabela 1. Composição das dietas formuladas (g/kg) de acordo com a AIN-93M, (61).....	82
Tabela 2. Composição da mistura mineral, adaptada de Reeves et al. (61).....	83
Tabela 3. Composição da mistura vitamínica, adaptada de Reeves et al. (61).....	84
Tabela 4. Composição centesimal (g/100g) e valor energético (kcal/100g) da dieta comercial Nuvilab CR – 1; NUVITAL [®]	86
Tabela 5. Composição centesimal (g/100g) e valor energético (kcal/100g) das dietas experimentais formuladas de acordo com a AIN-93M (61).....	87
Tabela 6. Valores médios (g) \pm desvio padrão (DP) de peso inicial, final e diferença de peso (ganho de peso) dos grupos experimentais.....	98
Tabela 7. Valores médios \pm DP de ferro sérico, UIBC, TIBC, ferritina e IST dos grupos experimentais.....	100
Tabela 8. Valores médios \pm DP das dosagens de hemoglobina (g/dL) nos tempos zero (inicial), intermediário (45 dias) e final (90 dias) dos grupos experimentais.	102
Tabela 9. Valores médios \pm DP das dosagens de hematócrito (%) nos tempos zero (inicial), intermediário (45 dias) e final (90 dias) dos grupos experimentais.	104
Tabela 10. Valores médios \pm DP das dosagens de VCM (fL) nos tempos zero (inicial), intermediário (45 dias) e final (90 dias) dos grupos experimentais.	106

Tabela 11. Valores médios \pm DP das dosagens de HCM (pg) nos tempos zero (inicial), intermediário (45 dias) e final (90 dias) dos grupos experimentais. 108

Tabela 12. Análise descritiva para a variável absorção aparente de ferro (mg/dia) e consumo diário de ração (g), nos grupos experimentais. 110

Tabela 13. Frequência e percentual (%) de esteatose hepática nos grupos experimentais. 114

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Estrutura molecular da polidextrose (50).....	60
Figura 2. Caixas coletivas de acordo com as condições experimentais/Laboratório de Enzimologia e Carcinogênese do Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental da Faculdade de Medicina da UNICAMP.	68
Figura 3. Esquema do delineamento experimental do ensaio biológico definitivo.	70
Figura 4. Ilustração da anastomose jejuno-ileal (59).....	72
Figura 5. Anatomia normal do animal, com visão panorâmica após incisão na linha mediana ventral (95).....	73
Figura 6. Exposição do ceco para localização do íleo terminal e jejuno para a anastomose jejuno-ileal (95).	74
Figura 7. Exposição da luz do jejuno e íleo para o término da anastomose jejuno-ileal (95).....	75
Figura 8. Demonstra a anastomose jejuno-ileal (95).....	76
Figura 9. Peletização da dieta experimental (a) e Estufa ventilada usada para secagem da ração (b e c).....	80
Figura 10. Identificação dos segmentos do intestino analisados.....	94

Figura 11. Evolução ponderal (g) dos animais no estágio inicial (antes do procedimento cirúrgico) alimentados com dieta comercial.	97
Figura 12. Evolução ponderal (g) dos animais durante todo o período experimental.....	99
Figura 13. Dosagens de hemoglobina (g/dL) nos tempos zero (inicial), intermediário (45 dias) e final (90 dias) dos grupos experimentais.	103
Figura 14. Dosagens de hematócrito (%) nos tempos zero (inicial), intermediário (45 dias) e final (90 dias) dos grupos experimentais.	105
Figura 15. Dosagens de VCM (fL) nos tempos zero (inicial), intermediário (45 dias) e final (90 dias) dos grupos experimentais durante todo o período experimental.	107
Figura 16. Dosagens de HCM (pg) nos tempos zero (inicial), intermediário (45 dias) e final (90 dias) dos grupos experimentais durante todo o período experimental.....	109
Figura 17. Consumo de ração (g/dia) \pm DP dos grupos experimentais.....	111
Figura 18. Peso (g) médio do fígado \pm DP dos grupos experimentais.	112
Figura 19. Concentrações médias \pm DP de ferro no fígado (mg/fígado) dos grupos experimentais.	113
Figura 20. Valores relativos (%) da análise conjunta entre as variáveis esteatose e grupo	115

Figura 21. Aspecto histológico do fígado, mostrando normalidade nas estruturas. (HE 10x)	116
Figura 22. Aspecto histológico do fígado, mostrando esteatose leve (Grau 1). (HE 10x)	117
Figura 23. Aspecto histológico do fígado, mostrando esteatose moderada (Grau 2). (HE 10x).	118
Figura 24. Aspecto histológico do fígado, mostrando esteatose intensa (Grau 3). (HE 10x).	119
Figura 25. Aspecto histológico do intestino no segmento S1, do animal 37 do grupo C2 (controle/ração comercial), mostrando preservação das estruturas. (HE 10x)	120
Figura 26. Aspecto histológico do intestino no segmento S2, do animal 37 do grupo C2 (controle/ração comercial), mostrando preservação das estruturas. (HE 10x)	121
Figura 27. Aspecto histológico do intestino no segmento S3, do animal 37 do grupo C2 (controle/ração comercial), mostrando preservação das estruturas. (HE 10x)	122
Figura 28. Aspecto histológico do intestino no segmento S4, do animal 37 do grupo C2 (controle/ração comercial), mostrando preservação das estruturas. (HE 10x)	123
Figura 29. Aspecto histológico do intestino no segmento S5, do animal 37 do grupo C2 (controle/ração comercial), mostrando preservação das estruturas. (HE 10x)	124

RESUMO

A derivação jejuno-ileal é um dos procedimentos cirúrgicos considerados disabsortivos no tratamento da obesidade mórbida, além de levar a deficiência na absorção de alguns minerais como o ferro, causando anemia, alterações hepáticas e proporcionando quantidade maior de ácidos biliares e outros nutrientes ao intestino grosso sem serem devidamente metabolizados, os quais podem ser considerados como co-fatores na carcinogênese. Por outro lado, alguns componentes ou ingredientes funcionais dos alimentos denominados prebióticos podem influenciar positivamente na absorção dos minerais e na supressão da produção de metabólitos carcinogênicos, sendo a polidextrose um desses compostos. O objetivo desta pesquisa foi avaliar o efeito da suplementação de polidextrose no metabolismo de ferro, na morfologia do intestino e alterações hepáticas em ratos Wistar submetidos à derivação jejuno-ileal. Foram utilizados 59 animais machos divididos em 3 grupos: Grupo Controle-Sham (C1); Grupo Controle (C2). Os animais do grupo C1 foram submetidos à laparotomia mediana com exposição das alças intestinais e Grupo (G) também submetidos a laparotomia e o intestino foi seccionado a 5 cm da junção duodeno-jejunal e a derivação jejuno-ileal foi realizada mediante anastomose látero-lateral no íleo terminal a 2 cm da válvula íleo-cecal. Após 15 dias os animais foram subdivididos em: C1- Grupo controle-Sham, composto de 6 animais que receberam a dieta AIN-93M formulada com ferro; C2 – Grupo controle, composto de 6 animais (ração comercial). G: Grupo operado que foi subdividido em 4 subgrupos: G3 – Grupo operado composto de 12 animais que receberam a dieta AIN-93M formulada com ferro; G4 – Grupo operado, composto de 12 animais que receberam a dieta AIN-93M formulada com ferro e com polidextrose 7,5%; G5 – Grupo operado, composto de 11 animais que receberam a dieta AIN-93M formulada com polidextrose 7,5%; G6 – Grupo operado composto de 12 animais que receberam dieta AIN-93M formulada sem ferro e sem polidextrose. Após 90 dias de observação, os animais foram eutanasiados. Foram coletados sangue, fígado e intestino para análises séricas e histológicas. Para a análise

histopatológica o intestino foi dividido em cinco segmentos (S1, S2, S3, S4 e S5) correspondentes ao íleo terminal, cólon ascendente, transverso, descendente e reto. Os animais operados apresentaram menor ganho de peso e menor consumo de ração. As dosagens séricas de ferro sérico, ferritina, capacidade total de ligação de ferro, capacidade de ligação de ferro insaturada, índice de saturação de transferrina e a análise de absorção aparente do ferro não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre os grupos. A análise da dosagem de hemoglobina mostrou diferença estatisticamente significativa entre os grupos no intervalo final de 90 dias e para o hematócrito nos intervalos de 45 dias e 90 dias. O exame histopatológico do fígado mostrou fígados normais e diversos graus de esteatose hepática. Considerando presença ou não de esteatose, foi observado diferença estatisticamente significativa entre os grupos estudados. Nas análises histopatológicas dos segmentos do intestino não foram observadas alterações. Portanto, os resultados da presente pesquisa permitem concluir que a suplementação de polidextrose na concentração 7,5% não teve efeito na absorção de ferro, nos parâmetros de ferro sérico e hematológicos após 90 dias da cirurgia de derivação jejuno-ileal. As alterações histológicas encontradas no fígado foram caracterizadas como esteatose e foram mais acentuadas nos animais submetidos à derivação jejuno-ileal. Não foram observadas alterações histológicas na mucosa intestinal dos segmentos estudados no período do estudo.

Palavras-chave: Derivação jejuno-ileal. Cirurgia. Alimentos funcionais. Prebióticos. Anemia.

ABSTRACT

The jejunioileal bypass is considered one of the disabsorptive surgical procedures in the treatment of morbid obesity, and lead to deficiency in the absorption of some minerals like iron, causing anemia, liver and providing greater amount of bile acids and other nutrients to the intestine not properly metabolized, which can be considered as cofactors in carcinogenesis. On the other hand, some components or functional food ingredients called prebiotics can positively influence the absorption of minerals and suppressing the production of carcinogenic metabolites, and the polydextrose it is one of these compounds. The objective of this research was to evaluate the effect of iron supplementation and / or polydextrose in iron metabolism and morphology of the intestine in rats submitted to jejunioileal bypass. Were employed 59 males rats divided into 3 groups: control-Sham group (C1), control group (C2). The animals of group C1 who underwent laparotomy with exposure of the bowel and Group (G) also underwent laparotomy and the small bowel was transected 5 cm from the duodenal-jejunal junction and a latero-lateral jejunioileal anastomosis was performed in the ileum 2 cm from the ileocecal valve. After 15 days the animals were divided into: C1-sham-control group, consisting of 6 animals received the AIN-93M diet formulated with iron; C2 - control group, consisting of 6 animals (commercial diet). G: Group operated which was subdivided into four subgroups: G3 - Group composed of 12 operated animals that received the AIN-93M diet formulated with iron; G4 - operated group, consisting of 12 animals that received the AIN-93M diet formulated with iron and with 7.5% polydextrose; G5 - operated group, consisting of 11 animals that received the AIN-93M diet formulated with polydextrose 7.5% G6 - operated group composed of 12 animals received AIN-93M diet formulated without iron and without polydextrose. After 90 days of observation, the animals were sacrificed. We collected blood, liver and intestine for analysis and histological studies. For histopathological analysis the intestine was divided into five segments (S1, S2, S3, S4 and S5) corresponding to the terminal ileum, ascending colon, transverse, descending and rectum.

Operated animals showed lower weight gain and lower feed intake. The serum levels of serum iron, ferritin, total iron-binding capacity, unsaturated iron binding capacity, transferrin saturation index and iron apparent absorption analysis showed no statistically significant difference between groups. The analysis of hemoglobin showed a statistically significant difference between groups in the final interval of 90 days and the hematocrit in intervals of 45 days and 90 days. Histopathology of the liver showed normal livers and various degrees of hepatic steatosis. Considering the presence or absence of steatosis, a statistically significant difference was observed between the groups. In the histopathological analysis of the segments of the intestine was not observed any change. Therefore, the results of this research showed that the supplementation of 7.5% polydextrose had no effect on iron absorption, serum iron and hematological levels after 90 days of jejunoileal bypass. The histological changes found in the liver were characterized as steatosis and were more pronounced in animals subjected to jejunoileal bypass. There were no histological changes in the intestinal mucosa of the segments during the study period.

Keywords: Jejunoileal bypass. Surgery. Functional foods. Prebiotics. Anemia.

1 INTRODUÇÃO

A obesidade é definida como uma doença crônica caracterizada pelo acúmulo excessivo de tecido adiposo no organismo. Atualmente é vista como um dos problemas de saúde pública nos países desenvolvidos, e crescente problema nos países em desenvolvimento (1,2).

Entretanto, na atualidade a opção viável de tratamento, com perda de peso e sua manutenção prolongada em baixos níveis, têm sido ofertadas pela cirurgia (3). Neste contexto, ela proporciona perda de peso através de métodos restritivos (nos quais é realizada redução na capacidade gástrica), malabsortivos (nos quais se realiza redução na área absorptiva do intestino delgado), ou através de associação de ambos (4,5).

A derivação jejuno-ileal é um procedimento cirúrgico disabsortivo (exclusão de uma porção do intestino delgado) que é executada desde 1960 em vários países como tratamento da obesidade mórbida. Embora acarrete significativa perda de peso, esse procedimento cirúrgico causa várias complicações, tais como: diarreia, distúrbios hepáticos e malabsorção de nutrientes. Devido a estas complicações, esse procedimento cirúrgico não tem sido mais recomendado isoladamente (6).

Como consequência dos procedimentos restritivo-disabsortivos podem ocorrer também deficiências de microelementos, vitaminas e anemia ferropriva (5).

De acordo com Alves *et al.* (7) estas deficiências parecem ser mais significativas após procedimentos disabsortivos.

A absorção do ferro ocorre principalmente no intestino delgado, sendo a absorção máxima no duodeno, seguida pela porção proximal do jejuno, com absorção mínima no íleo (8). No entanto, algumas pesquisas têm mostrado que a porção baixa do trato digestório, especialmente o colon proximal, também pode ser um importante sítio na absorção do ferro quando a absorção no intestino delgado for prejudicada (8,9,10), como ocorre após as gastroplastias restritivo-disabsortivos e/ou disarbsortivas (5). Por outro lado, Bouglé *et al.* (10), em estudos utilizando ratos, verificaram que os ácidos graxos de cadeia curta, principalmente o propionato parece provavelmente aumentar a absorção de ferro no colón proximal. Isto sugere que o processo de ingestão de prebióticos “*in vivo*” aumente a biodisponibilidade de ferro dietético.

Os prebióticos são compostos não digeríveis, não hidrolisados no intestino delgado superior, alcançando o intestino grosso intactos, onde servem como substratos para o metabolismo bacteriano (11), promovendo a proliferação das bifidobactérias no cólon (12).

A polidextrose (POLI) é um prebiótico, a qual é fermentada parcialmente no intestino grosso, aumentando o volume de massa fecal, reduzindo o tempo de trânsito intestinal, suavizando e diminuindo o pH do bolo fecal. Essa fermentação conduz ao crescimento de microflora favorável, redução da microflora putrefativa,

maior produção de ácidos graxos de cadeia curta e a supressão da produção de metabólitos carcinogênicos (por exemplo, o indol e o *p-cresol*) (13). Probert *et al.* (14) em estudo “*in vitro*” demonstraram que a ingestão de polidextrose aumentou a produção de bifidobactérias nos três estágios do cólon (cólon proximal, transverso e região final) e manteve uma variedade diversa de diferentes bifidobactérias. Além disso, diminuiu os níveis de bactérias patogênicas no cólon proximal, demonstrando o seu efeito prebiótico em toda a extensão do cólon.

Em estudo recente com ratos gastrectomizados, a polidextrose aumentou a absorção aparente de ferro, os níveis de ferro sérico, hematócrito e hemoglobina (15). Assim, é possível identificar componentes e/ou ingredientes funcionais dos alimentos que podem influenciar positivamente a absorção de ferro a fim de assegurar uma melhor biodisponibilidade (16).

Diante deste contexto, sabe-se que após o procedimento cirúrgico de derivação jejuno-ileal os pacientes apresentam deficiência na absorção de ferro e quantidade maior de ácidos biliares e outros nutrientes no intestino grosso.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Obesidade/Aspectos gerais

A obesidade é definida, segundo a Organização Mundial de Saúde (17), como...”doença na qual o excesso de gordura corporal se acumulou a tal ponto que a saúde pode ser afetada. Já Segal e Fandino (1) e Fandino *et al.* (2), definem a obesidade como uma doença crônica caracterizada pelo acúmulo excessivo de tecido adiposo no organismo. É vista atualmente como um dos problemas de saúde pública mais preocupante nos países desenvolvidos, e crescente problema nos países em desenvolvimento. Trata-se de um fenômeno multifatorial que envolve componentes genéticos, comportamentais, psicológicos, sociais, metabólicos e endócrinos (18).

Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), no Brasil há 38,8 milhões de pessoas com 20 anos ou mais de idade que estão acima do peso, o que representa 40,6% da população total do país, e, dentro deste grupo, 10,5 milhões são obesos (11% da população). Fato definido é que a pessoa obesa mórbida com 25 anos sofre redução de 22% na expectativa de vida, ou seja, perda aproximada de 12 anos de sua existência (3,7).

Os estudos epidemiológicos em populações latino-americanas têm revelado dados preocupantes nesse sentido. Entre as camadas mais pobres da população, à medida que se consegue erradicar a miséria, a obesidade desponta como um

problema mais freqüente e mais grave que a desnutrição. É o fenômeno denominado de transição nutricional (19).

Entre as complicações médicas associadas com a obesidade podemos citar as doenças cardiovasculares, hipertensão arterial, dislipidemias, diabetes mellitus, esteatose hepática, calculose de vesícula biliar, osteoartrite e diversos tipos de câncer constatados pelo *Committee on Diet and Health, National Research Council* em 1989. É provável que 200.000 pessoas morram anualmente em decorrência destas complicações na América Latina (20).

A maneira mais objetiva para classificar a obesidade é o Índice de Massa Corpórea (IMC). A faixa de peso de IMC considerada normal varia de 19 a 24,9 Kg/m². Pessoas com IMC de 25 a 30 são consideradas acima do peso (sobrepeso), enquanto aquelas entre 30 e 40 já são classificadas como obesas. Finalmente, pessoas com IMC acima de 40 são portadoras de obesidade mórbida. Os pacientes com obesidade mórbida devem ser encarados como portadores de uma doença que ameaça a vida, reduz a qualidade de vida e auto-estima e que requerem abordagens eficientes para promover uma redução do peso. Esses pacientes são candidatos à cirurgia bariátrica (21).

Sendo a obesidade uma condição médica crônica de etiologia multifatorial, o seu tratamento envolve várias abordagens tais como nutricional, medicamentoso e exercício físico. Entretanto vários pacientes não respondem a estas manobras terapêuticas, necessitando de uma intervenção mais eficaz (2).

Na atualidade, a opção viável de tratamento, com perda de peso e sua manutenção prolongada em baixos níveis, têm sido ofertada pela cirurgia (3). Neste contexto, as cirurgias bariátricas podem ser didaticamente divididas em procedimentos que: 1) limitam a capacidade gástrica (as chamadas cirurgias restritivas); 2) interferem na digestão (os procedimentos mal-absortivos); e 3) uma combinação de ambos as técnicas. São consideradas uma opção para o controle da obesidade mórbida a longo prazo (4, 5, 22).

De acordo com Teixeira *et al.* (3) nos anos de 2002 e 2003, 146.301 operações para a obesidade foram realizadas em 31 nações pertencentes à Federação Internacional para a Cirurgia da Obesidade, ou grupos nacionais, mais a Suécia. Destas operações, 69,96% ofereceram algum componente mal absoritivo aos pacientes.

A derivação jejuno-ileal é um procedimento cirúrgico disabsortivo, acarreta significativa perda de peso, e complicações, tais como: diarréia, distúrbios hepáticos e malabsorção de nutrientes e não tem sido mais recomendado isoladamente (6).

Procedimentos malabsortivos permitem que quantidade maior de secreção biliopancreática, que normalmente seria reabsorvida pelo intestino delgado, atinja o intestino grosso (3). Alta concentração de ácidos biliares pode causar inflamação intestinal (23) e acredita-se estarem envolvidos no aumento do risco para câncer colorretal (3,24,25).

Portanto, a associação de procedimentos restritivo-disarbsortivos podem ocasionar deficiências de microelementos, vitaminas e anemia ferropriva (5). Alves *et al.* (7) enfatizam que estas deficiências parecem ser mais significativas após procedimentos disabsortivos.

2.2 Ferro

O ferro é o quarto elemento mais abundante na crosta terrestre e é um nutriente essencial para praticamente todos os seres vivos. Seu estado de oxidação, na maioria das formas naturais, é +2 (ferroso) ou +3 (férico), sendo o íon ferroso totalmente hidrossolúvel nos níveis fisiológicos de pH mas, na presença de oxigênio molecular, ele pode ser oxidado para o estado férico (26).

Apesar de sua abundância, o ferro não é captado facilmente pelos organismos vivos em razão da sua insolubilidade em água, exceto em solução ácida (26). Embora outros metais de transição possam existir em diferentes estados de oxidação, o ferro é único em sua capacidade para formar complexos com potencial redox (27).

Em seres humanos, a quantidade total de ferro corporal varia com o peso, a concentração de hemoglobina, o sexo e o tamanho do compartimento de armazenamento (28). De acordo com Sharp *et al.* (29) o conteúdo total de ferro em um adulto sadio é aproximadamente de 3,5 a 4g nas mulheres e de 4 a 5g nos

homens. Cerca de 30% do ferro corporal está armazenado sob forma de ferritina (20%) ou de hemossiderina (10%) e quanto ao local, fígado, medula óssea, baço, músculos e sangue. O ferro essencial ou funcional está compondo a hemoglobina (60%), a mioglobina (5%) e as enzimas (5%). Ainda uma pequena parte (<0,1%) está ligada a transferrina na circulação (30).

2.2.1 Mecanismos de absorção, fisiologia e metabolismo do ferro

No indivíduo normal, as necessidades diárias de ferro são pequenas em comparação com o ferro circulante, pois somente é absorvido uma pequena proporção do total ingerido. A absorção de ferro varia de acordo com a quantidade e o tipo de ferro presentes nos alimentos, o estado dos depósitos corporais do mineral, das necessidades, da atividade eritropoiética e uma série de fatores luminiais e intraluminiais que interferem ou facilitam a absorção (31).

Nos alimentos, o ferro é encontrado como parte de dois grupos diferentes, um na forma de ferro heme e outro de ferro não-heme. O tipo heme, forma parte da hemoglobina, mioglobina, citocromos e muitas outras hemoproteínas que são encontradas em alimentos de origem animal. O ferro do tipo não-heme é encontrado como hidróxido de ferro, sais de ferro ou proteínas férricas, nos alimentos de origem vegetal, produtos lácteos e representa a maior parte do ferro da dieta (32).

A absorção do ferro no trato gastrointestinal acontece em 2 estágios distintos: absorção do ferro heme, que fornecerá ferro para hemoglobina, mioglobina e enzimas e absorção do ferro não heme, destinado a todos os outros compostos de ferro (30, 33).

a) Absorção do ferro não-heme: o ferro na forma férrica (Fe^{3+}) por ação do ácido clorídrico do estômago passa à sua forma reduzida, ferrosa (Fe^{2+}), que é a forma química solúvel capaz de atravessar a membrana da mucosa intestinal. A absorção do ferro não-heme depende da solubilidade na parte alta do intestino delgado (31); e é proporcional à quantidade de inibidores e potenciadores da solubilidade (29).

Algumas substâncias como o ácido ascórbico e certos aminoácidos podem formar quelatos de ferro de baixo peso molecular, facilitando a absorção intestinal, devido a existência de um receptor específico na membrana da borda em escova. No interior do citosol a ceruloplasmina oxida o ferro ferroso (Fe^{2+}) à sua forma férrica (Fe^{3+}) para que seja captado pela apotransferrina que se transforma em transferrina. O ferro que excede a capacidade de transporte intracelular é depositado como ferritina, da qual uma parte pode ser posteriormente liberada na circulação (31).

b) Absorção de ferro heme: este tipo atravessa a membrana celular como uma metaloporfirina intacta, uma vez que as proteases endoluminais da membrana do enterócito hidrolisam a globina. Os produtos desta degradação são importantes

para a manutenção do ferro em estado solúvel, garantindo sua disponibilidade para absorção. O ferro heme representa uma pequena porção de ferro total da dieta, no entanto, sua absorção é maior (20-30%) e está menos afetada por componentes da dieta (31).

Em geral apenas uma pequena parte do ferro dietético é absorvido. Adultos com estado férrico normal absorvem cerca de 15% do ferro heme, podendo atingir absorção de 35-50% em indivíduos cujos estoques de ferro é deficiente; quanto ao ferro não-heme, a absorção é em torno de 2% podendo atingir 20% quando o estado férrico está deficiente (28).

A absorção do ferro ocorre em todas as porções do intestino delgado; predominantemente no duodeno e parte proximal do jejuno (34). No entanto, qualquer anormalidade no trato gastrointestinal pode alterar sua absorção. A má absorção de ferro é comum depois de algumas cirurgias gastrointestinais, como as ressecções gástricas (gastrectomias) (32).

A capacidade de excreção de ferro do organismo é muito limitada (31). As perdas de ferro ocorrem a partir do trato gastrintestinal, pele e trato urinário. Dois terços das perdas gastrintestinais são oriundas da descamação das células da mucosa. Evidências têm mostrado que o ferro pode ser excretado como ferritina, juntamente com o muco, a partir das células globosas do duodeno e jejuno superior dos seres humanos. Nos indivíduos normais, a célula epitelial do intestino contém quantidade variada de ferro, oriundo da dieta e das reservas corporais.

Após dois a três dias, as células são descamadas e o ferro é perdido nas fezes. O suor contém pouco ferro e as perdas não aumentam em situações de sudorese elevada (35).

A perda de ferro diária em homens adultos é entre 0,90 e 1,5 mg/dia, ou aproximadamente 0,013 mg/kg de peso corporal / dia. Destes, 0,35 mg se perde pela matéria fecal; 0,10 mg através da mucosa intestinal (ferritina); 0,20 mg pela bile; 0,08 mg por via urinária e 0,20 mg por descamação cutânea (28,31). Importantes causas de perda de ferro são a doação de sangue, hemorragias intestinais e infestações parasitárias (36). As mulheres na idade fértil estão expostas a uma depleção adicional de ferro que acompanha a menstruação (31).

O ferro excretado nas fezes é derivado do sangue perdido para dentro do canal alimentar, do ferro inabsorvido na bile e de células mucosas intestinais descamadas (28).

Sendo a excreção de ferro muito restrita, o requerimento do nutriente deve ser suficiente para repor as perdas pelas fezes que incluem o ferro não absorvido da dieta e também a descamação celular do epitélio gastrintestinal, ou ainda a perda através da pele e fâneros e trato urinário (37).

O ferro é um micronutriente da classe dos microminerais (elementos traços), que são necessários em quantidades pequenas, tipicamente menos que 15mg/dia (38).

2.2.2 Deficiência de ferro

Sendo o ferro, componente essencial de várias enzimas, muitos órgãos ou sistemas apresentam alterações funcionais e estruturais quando o organismo não recebe suficiente aporte do nutriente. A deficiência de ferro tornando-se severa poderá provocar alterações na estrutura e funções dos tecidos epiteliais, em especial da boca, língua e estômago e ainda, redução da resposta imunológica, visto que é essencial para o desenvolvimento e integridade do tecido linfóide, ocorrerão alterações de termoregulação devido à redução significativa de hormônios tireoideanos (39).

A Organização Mundial da Saúde (OMS), em 1968, (40) definiu o termo anemias nutricionais como “uma condição na qual o conteúdo de hemoglobina do sangue está abaixo do normal como resultado da deficiência de um ou mais nutrientes essenciais, considerando a causa a cada deficiência”. Sendo os pontos de corte recomendados para a definição da anemia: <11,5 g/dL para crianças de 7 a 11 anos; <12,0 g/dL para crianças de 12 a 14 anos; <13,0 g/dL para homens maiores de 15 anos e <12g/dL para mulheres maiores de 15 anos. Um quadro severo de anemia é diagnosticado sempre que a concentração de hemoglobina for inferior a 9,5 g/dL. A partir disso, uma série de estudos administrados pela OMS foram realizados com o objetivo de determinar os diferentes tipos de deficiência, e concluiu-se que a deficiência predominante era a de ferro chegando a ser cerca de 10 vezes mais alta que a do folato ou vitamina B₁₂ (40).

De acordo com alguns autores a deficiência de ferro é o maior problema nutricional de saúde pública, e é de ordem econômica e educacional, de países desenvolvidos e em desenvolvimento (41,42), apresentando-se como uma diminuição do número de glóbulos vermelhos. Aproximadamente 20% das mulheres, 50% das mulheres grávidas e 3% dos homens apresentam deficiência de ferro; as principais causas desta deficiência são: escasso aporte de ferro dietético, anormalidades do trato gastrointestinal e perda de sangue (32).

O estágio inicial de deficiência de ferro é chamado depleção de ferro e caracteriza-se pela redução das reservas de ferro. A concentração de ferro sérico e hemoglobina, porém são normais. O estágio a seguir é denominado deficiência de ferro sem anemia, o qual apresenta eritropoiese normocítica deficiente de ferro; os níveis séricos de ferro e a saturação da transferrina, porém estarão diminuídos. O último estágio da deficiência nutricional de ferro é a anemia ferropriva propriamente dita em que a concentração sérica de ferro e a saturação da transferrina estão reduzidas. Os valores de hemoglobina e hematócrito também estão reduzidos e os índices hematimétricos VCM (Volume Corpuscular Médio), HCM (Hemoglobina Corpuscular Média) e CHCM (Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média), abaixo dos níveis normais são característicos de células microcíticas e hipocrômicas (41).

Visto que a carência nutricional de ferro instala-se gradual e progressivamente, a avaliação do estado corporal do nutriente pode ser realizada através de parâmetros bioquímicos e hematológicos, os quais devem ser

analisados juntos. A escolha dos parâmetros deve ser feita de maneira rigorosa, considerando características tanto intrínsecas quanto extrínsecas da população (41).

De acordo com Worwood (43) o estado do ferro corporal pode ser estimado através da avaliação do conteúdo de ferro funcional que compreende concentração de hemoglobina, índices hematimétricos (VCM e HCM), protoporfirina eritrocitária, ferritina eritrocitária e receptor de transferrina sérica; ferro tecidual que compreende ferro sérico, capacidade total de ligação de ferro e saturação de transferrina e ferro estocado, compreendendo o ferro contido no fígado, medula óssea e ferritina sérica.

A concentração de hemoglobina é o parâmetro universalmente utilizado na avaliação do estado férrico, embora este parâmetro apresente alterações somente no estágio final da deficiência de ferro. O uso isolado da concentração de hemoglobina pode não garantir especificidade e sensibilidade suficientes para julgar a deficiência (41). Segundo Cook e Finch (44), quando outros indicadores são considerados em conjunto com a concentração de hemoglobina, a prevalência da deficiência de ferro e anemia aumentaria de modo significativo. Os autores concluíram que pelo menos outros dois indicadores deveriam ser também utilizados.

Haas e Brownlie (45), realizaram estudos em animais e humanos e demonstraram que as deficiências de ferro sejam leve, moderada ou severa,

causam alterações da capacidade aeróbica, eficiência energética, atividade voluntária e produtividade.

2.3 Alimentos funcionais e prebióticos

O termo **Alimentos Funcionais** foi inicialmente proposto no Japão, em meados de 1980, principalmente em função de uma população sempre crescente de idosos e da preocupação, tanto da população em geral como do governo, na prevenção das doenças crônicas e degenerativas (46).

Uma definição abrangente de **alimento funcional** seria qualquer alimento, natural ou preparado pelo homem, que contenha uma ou mais substâncias, classificadas como nutrientes ou não-nutrientes, capazes de atuar no metabolismo e na fisiologia humana, promovendo efeitos benéficos à saúde, podendo retardar o estabelecimento de doenças crônicas e/ou degenerativas e melhorar a qualidade e a expectativa de vida das pessoas. São efeitos que vão além da função meramente nutricional há muito conhecida, qual seja, a de fornecer energia e nutrientes essenciais em quantidades equilibradas, para a promoção do crescimento normal e evitar desequilíbrios nutricionais (47).

O termo **prebiótico** é aplicado a substâncias que promovem o crescimento de microrganismos benéficos (47). Os prebióticos são ingredientes alimentares não digeríveis que podem ser utilizados no metabolismo de bactérias intestinais.

As substâncias prebióticas como polidextrose (13), lactulose, lactitol, xilitol, inulina e alguns oligossacarídeos não-digeríveis estimulam o crescimento das bifidobactérias do cólon. As alegações benéficas incluem o alívio da má-digestão de lactose, o aumento da resistência à infecção bacteriana, o estímulo à resposta imune e a possível proteção contra o câncer (48), incluindo a diminuição do risco das doenças intestinais, cardiovasculares, diabetes não insulino-dependente, obesidade e osteoporose (49).

Segundo Manning e Gibson (49), alguns critérios devem ser considerados para classificar um alimento como prebiótico: 1) não deve sofrer hidrólise ou absorção no intestino delgado; 2) quando atingir o cólon deve ser metabolizado seletivamente por número limitado de bactérias benéficas; 3) deve ser capaz de alterar a microflora colônica para uma microflora bacteriana saudável; 4) ser capaz de induzir efeito fisiológico que seja importante para a saúde.

2.3.1 Polidextrose

A polidextrose (POLI) (Figura 1) é formada por polímeros de glicose, obtida pela policondensação térmica a vácuo da glicose com uma pequena quantidade de sorbitol e ácido cítrico como catalisador (aproximadamente 90:10:1, respectivamente), formando cadeias com ligações do tipo 1-6 predominantemente, com massa molar variando de 162 a 20.000 Da (13,50).

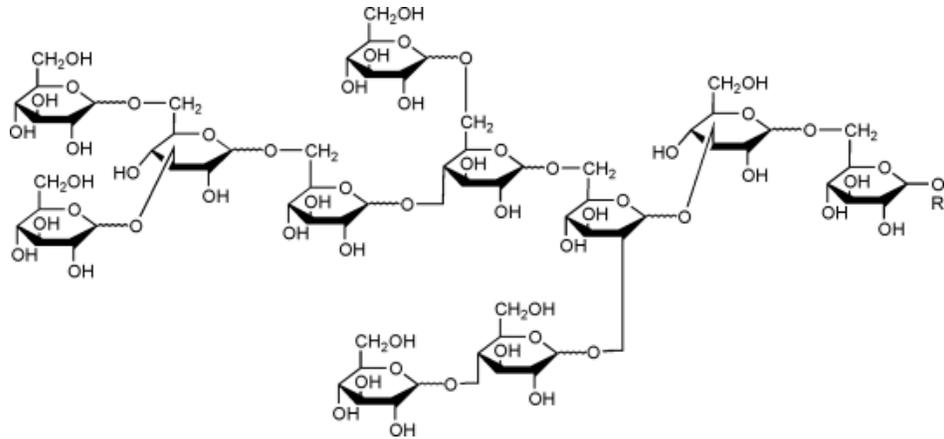


Figura 1. Estrutura molecular da polidextrose (50).

De acordo com Craig *et al.* (50) a polidextrose apresenta baixa digestibilidade capaz de produzir efeitos fisiológicos similares aos de fibras alimentícias solúveis pela sua capacidade de atingir o cólon intacta, não sofrendo digestão no trato gastrintestinal superior, tanto pela acidez do estômago quanto pelas enzimas digestivas. Jie *et al.* (13) também demonstraram que os efeitos fisiológicos da polidextrose são concordantes com os causados pelas fibras dietárias.

Segundo Hara *et al.* (51) a polidextrose é uma fibra dietética pouco fermentável, muito estável, de baixa viscosidade e amplamente distribuída. As ligações aleatórias do polímero de polidextrose impedem que as enzimas digestivas hidrolisem a molécula (52), justificando seu reduzido valor energético (1 kcal/g) (50,51,53). Assim, a polidextrose é dificilmente digerida no intestino delgado após administração oral, com aproximadamente 60% dela sendo

excretada nas fezes e 30% fermentada no intestino grosso pela microflora intestinal produzindo ácidos graxos voláteis e CO₂ (54).

A povidextrose tem sido o alvo de muitos estudos, devido a sua versatilidade e multifuncionalidade, além de ser um excelente ingrediente. Jie *et al.* (13), objetivaram estudar os efeitos fisiológicos em indivíduos chineses submetidos à ingestão de diferentes quantidades de povidextrose. Participaram do estudo 66 homens e 54 mulheres saudáveis, com idades médias de 32,9 e 24,4 anos, respectivamente. Os indivíduos foram divididos em quatro grupos (A, B, C e D), os quais receberam zero g (grupo controle), 4 g, 8 g e 12 g de povidextrose, respectivamente, administradas em forma de pó dissolvidas em 100 mL de água quente, durante 28 dias. Antes de iniciar o estudo, foram submetidos a exames físicos, bioquímicos, inquérito alimentar e de hábitos intestinais. Aqueles que receberam povidextrose apresentaram maior frequência e facilidade nas evacuações, devido ao aumento do peristaltismo intestinal ocasionado pela excelente capacidade de retenção hídrica da povidextrose, aumento do peso úmido das fezes, o que a torna pastosa e de fácil eliminação, redução no pH fecal devido à produção de ácidos graxos de cadeia curta, crescimento das células epiteliais cecais normais e nenhuma evidência de efeitos laxativos com ingestão de 90 gramas por dia. O estudo pode verificar que o baixo pH intestinal e o aumento das evacuações podem impedir a produção de toxinas entéricas, prevenir a constipação, diverticulose e risco de câncer de cólon. Além disso, inibiu a absorção excessiva de glicose no intestino delgado e a fermentação no intestino grosso produziu ácidos graxos de cadeia curta favorecendo a redução do pH do

intestino. Os autores concluíram que a ingestão diária de 4-12g de polidextrose melhora a função fisiológica sem produzir efeitos adversos (13).

Ishizuka *et al.* (55), comprovaram o efeito protetor da polidextrose no intestino, em especial na região retal. O estudo objetivou investigar o efeito da fibra no desenvolvimento de focos de criptas anormais, em ratos alimentados com dieta contendo polidextrose. Os animais foram alimentados em períodos distintos e receberam 1,2-dimetil hidrazina (DMH) injetável antes e após a ingestão da dieta. Cada parâmetro para foco de criptas anormais foi significativamente reduzido em ratos alimentados com polidextrose desde sete dias antes da injeção de DMH do que nos ratos alimentados com dieta livre de fibra (55).

A polidextrose apresenta, ainda, papel benéfico no metabolismo dos lipídeos quando comparado com outra fonte de fibras como a goma guar hidrolisada. Choe *et al.* (56) realizaram um estudo na Coreia sobre os efeitos da polidextrose e da goma guar hidrolisada no metabolismo de ratos normais com diferentes níveis de gordura na dieta. Os pesquisadores utilizaram dietas contendo níveis altos e moderados de gordura. Em seguida, alimentaram os animais com polidextrose e outro grupo com goma guar hidrolisada. Foram determinados os valores de lipídeos totais, triacilgliceróis, colesterol total e colesterol HDL utilizando métodos enzimáticos apropriados. Os grupos alimentados com polidextrose apresentaram menores níveis de triacilgliceróis quando comparado com o grupo que recebeu goma guar hidrolisada.

De acordo com Hara *et al.* (51) em estudo com animais, a ingestão de polidextrose (5g/100g de dieta) incrementou a concentração de cálcio nos ossos de ratas normais, o que pode ser relevante para diminuir o risco de osteoporose.

Santos *et al.* (57), analisaram a absorção de cálcio, em ratos gastrectomizados, frente à suplementação de polidextrose, durante 8 semanas. Os autores puderam comprovar que a absorção aparente de cálcio foi maior nos ratos que receberam dieta suplementada com polidextrose, além de apresentarem plena recuperação. Além disso, avaliaram a suplementação de polidextrose na absorção de ferro em ratos parcialmente gastrectomizados com anastomose ao jejuno, durante 60 dias (15). Os animais foram alimentados, com dieta formulada contendo ou não polidextrose. Foram determinados o ferro fecal, absorção aparente, ferro sérico, hematócrito e hemoglobina. Os resultados do estudo indicaram que a suplementação de polidextrose, como prebiótico, aumenta a absorção de ferro em ratos parcialmente gastrectomizados (15).

Assim, é possível identificar componentes e/ou ingredientes funcionais dos alimentos que podem influenciar positivamente a absorção de ferro a fim de assegurar uma melhor biodisponibilidade (16).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito da suplementação de polidextrose no metabolismo de ferro, na morfologia do intestino e alterações hepáticas em ratos submetidos à derivação jejuno-ileal, envolvendo os tópicos a seguir:

3.2 Objetivos Específicos

- Determinar absorção aparente de ferro.
- Realizar a dosagem do ferro sérico.
- Analisar a capacidade de ligação de ferro insaturada (UIBC).
- Analisar a capacidade total de ligação de ferro (TIBC).
- Determinar índice de saturação de transferrina (IST).
- Determinar a ferritina sérica.
- Determinar hematócrito, hemoglobina, volume corpuscular médio e hemoglobina corpuscular média.
- Determinar a concentração de ferro no fígado.
- Realizar histologia no fígado e nos segmentos do intestino.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Ensaio Biológico

Inicialmente foi realizado um ensaio piloto com 3 concentrações diferentes de povidexrose (5%, 7,5% e 10%), onde foi definido utilizar no experimento definitivo a concentração 7,5% visto que os animais que receberam a suplementação 10% apresentaram diarreia.

4.1.1 Animais para experimentação

Foram utilizados ratos da linhagem Wistar “S.P.F. – Specific Pathogen Free”, albinos, machos, provenientes do Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica (CEMIB) da Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP.

4.1.2 Condições experimentais

Os animais foram mantidos em caixas coletivas (Figura 2) com água e alimentação sob o sistema de livre acesso durante todo o experimento, no Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental (NMCE), local de realização desta pesquisa. A temperatura e umidade relativa permaneceram em uma faixa de $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$ e 60-70%, respectivamente, e com ciclo claro/escuro de 12 horas iniciando às 7:00 hs.



Figura 2. Caixas coletivas de acordo com as condições experimentais/Laboratório de Enzimologia e Carcinogênese do Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental da Faculdade de Medicina da UNICAMP.

4.1.3 Delineamento experimental

Os ratos foram obtidos com aproximadamente 100g e foram alimentados com ração comercial Nuvilab CR_1 (Nuvital®) até completarem o peso para o procedimento cirúrgico (~ 250 g).

Quando atingiram 250g foram previamente anestesiados mediante injeção endovenosa de tiopental sódico (25mg/kg de peso) e submetidos a derivação jejuno-ileal – grupo experimental (3). O grupo Sham (falso operado) foi submetido ao mesmo estresse cirúrgico, onde a cavidade abdominal foi mantida aberta por aproximadamente 30 minutos, que é o tempo de duração do procedimento. Já o grupo denominado controle não passou por falsa cirurgia, foram mantidos no

laboratório em ração comercial por 90 dias, tempo de duração da fase experimental.

O experimento foi realizado dividindo-se os animais em subgrupos, de acordo com o delineamento experimental (Figura 3), respectivamente, em grupos G de animais operados e grupo C de animais controles e/ou Sham. Cada subgrupo foi nomeado de acordo com a dieta administrada:

C1: Sham/ Dieta formulada com ferro

C2: Controle/ Ração comercial

G3: Operados/ Dieta formulada com ferro

G4: Operados/ Dieta formulada com ferro e com polidextrose 7,5%

G5: Operados/ Dieta formulada com polidextrose 7,5%

G6: Operados/ Dieta formulada sem ferro e sem polidextrose

O protocolo do estudo foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da Universidade Estadual de Campinas-Unicamp, protocolo nº 1387-1 em 31 de outubro de 2007 (ANEXO 1), sendo o trabalho conduzido dentro dos padrões éticos internacionais que visam eliminar todo o sofrimento desnecessário ao ser vivo.

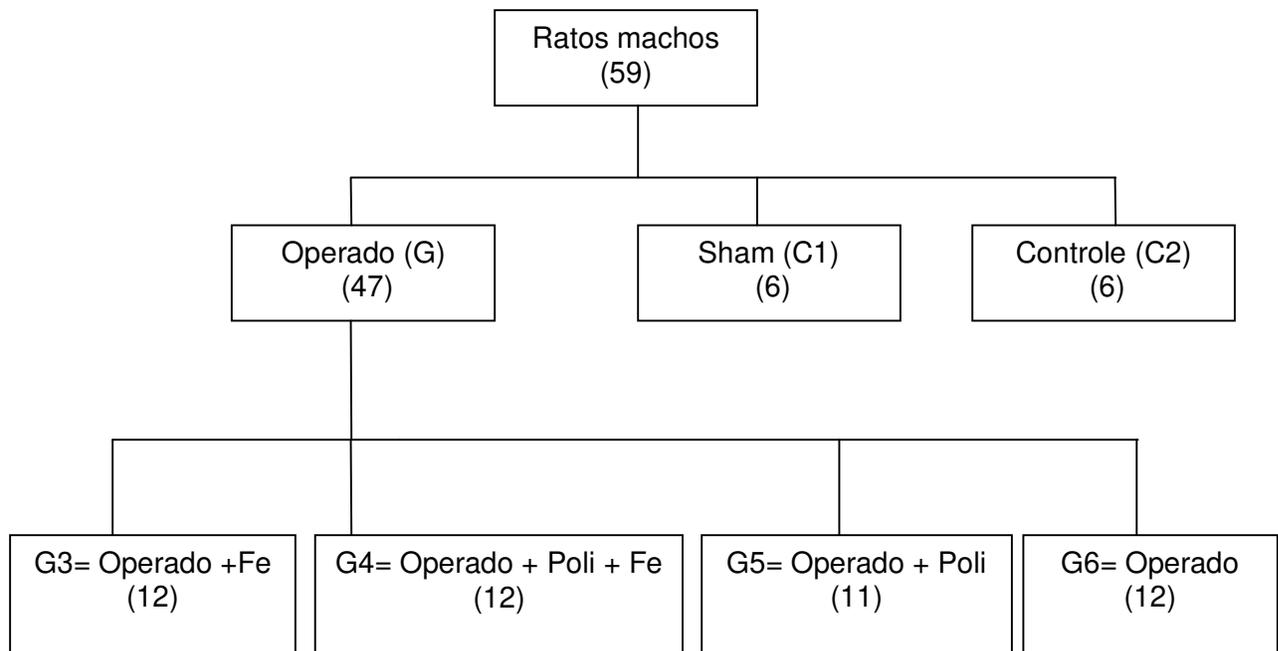
Delineamento experimental

Figura 3. Esquema do delineamento experimental do ensaio biológico definitivo.

C1: Grupo sham (dieta formulada com ferro); **C2:** Grupo controle (ração comercial). **G:** Grupo operado que foi subdividido em 4 subgrupos: **G3:** Operado + dieta formulada com ferro; **G4:** Operado + dieta formulada com ferro e com povidexrose 7,5%; **G5:** Operado + dieta formulada com povidexrose 7,5%; **G6:** Operado + dieta formulada sem ferro e sem povidexrose.

4.2 Procedimento cirúrgico

O procedimento cirúrgico realizado obedeceu rigorosamente os princípios da técnica cirúrgica específica já padronizada, bem como a anatomia do animal (58).

Após atingirem 250g, os animais foram submetidos à cirurgia propriamente dita. Os seguintes procedimentos foram adotados, obedecendo à ordem discriminada abaixo:

- a) Os animais foram mantidos em jejum de ração durante aproximadamente 12 horas;
- b) Foram anestesiados mediante injeção endovenosa de tiopental sódico (25mg/kg de peso), sendo mantidos anestesiados durante todo o processo cirúrgico;
- c) Tricotomia de toda a extensão do abdome;
- d) Assepsia do abdome com álcool iodado;
- e) Colocação de campo esterilizado fenestrado;
- f) Abertura da cavidade abdominal do animal, através de incisão mediana desde o apêndice xifóide até metade da distância entre o mesmo e o seu quadril;
- g) Procedimento cirúrgico: Derivação jejuno-ileal.
- h) Descrição da anastomose Jejuno-ileal (Ver figura 5, 6, 7 e 8)
 - Identificação do segmento proximal do jejuno e logo a seguir a localização da junção ileocecal.
 - Aproximadamente a 5 cm do ligamento de Treitz a parede do jejuno é transfixada à parede do íleo a 2cm da junção ileocecal.

- Anastomose jejuno-ileal látero-lateral em plano único com fio polipropileno azul 4-0 com sutura contínua.
- Revisão e limpeza da cavidade e fechamento da parede abdominal utilizando sutura contínua de fio de algodão com poliéster 4-0 e em seguida fechamento da pele com pontos intradérmicos com este mesmo fio.

A anastomose jejuno-ileal látero-lateral realizada seguiu o modelo proposto por BRISTOL *et al.* (59), conforme Figura 4 abaixo.

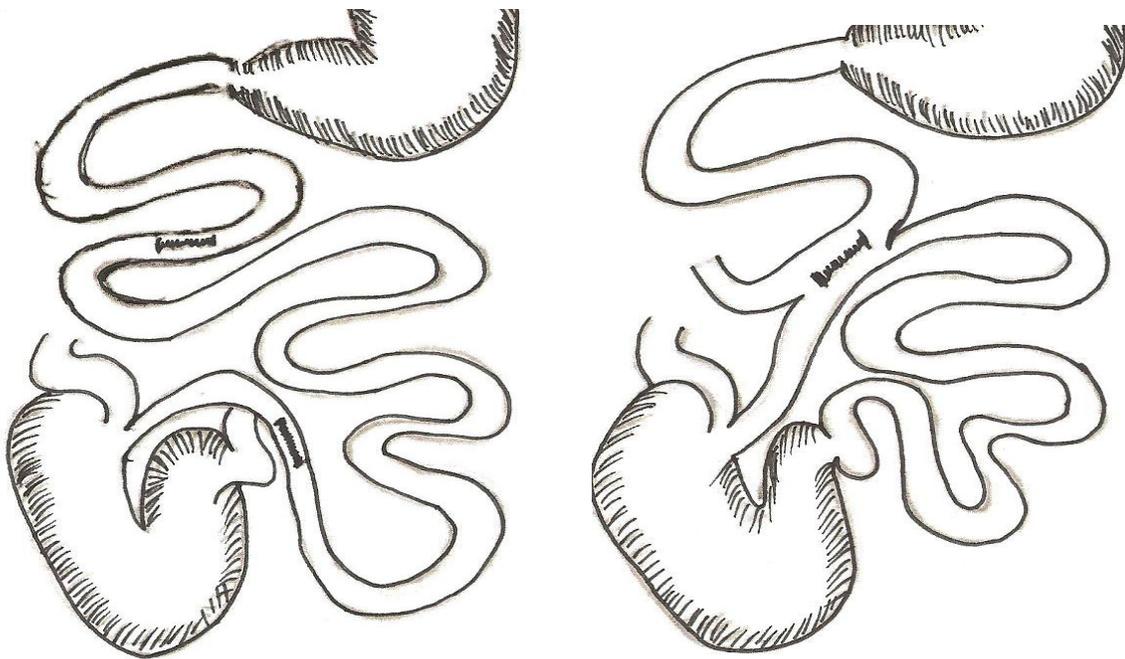


Figura 4. Ilustração da anastomose jejuno-ileal (59).

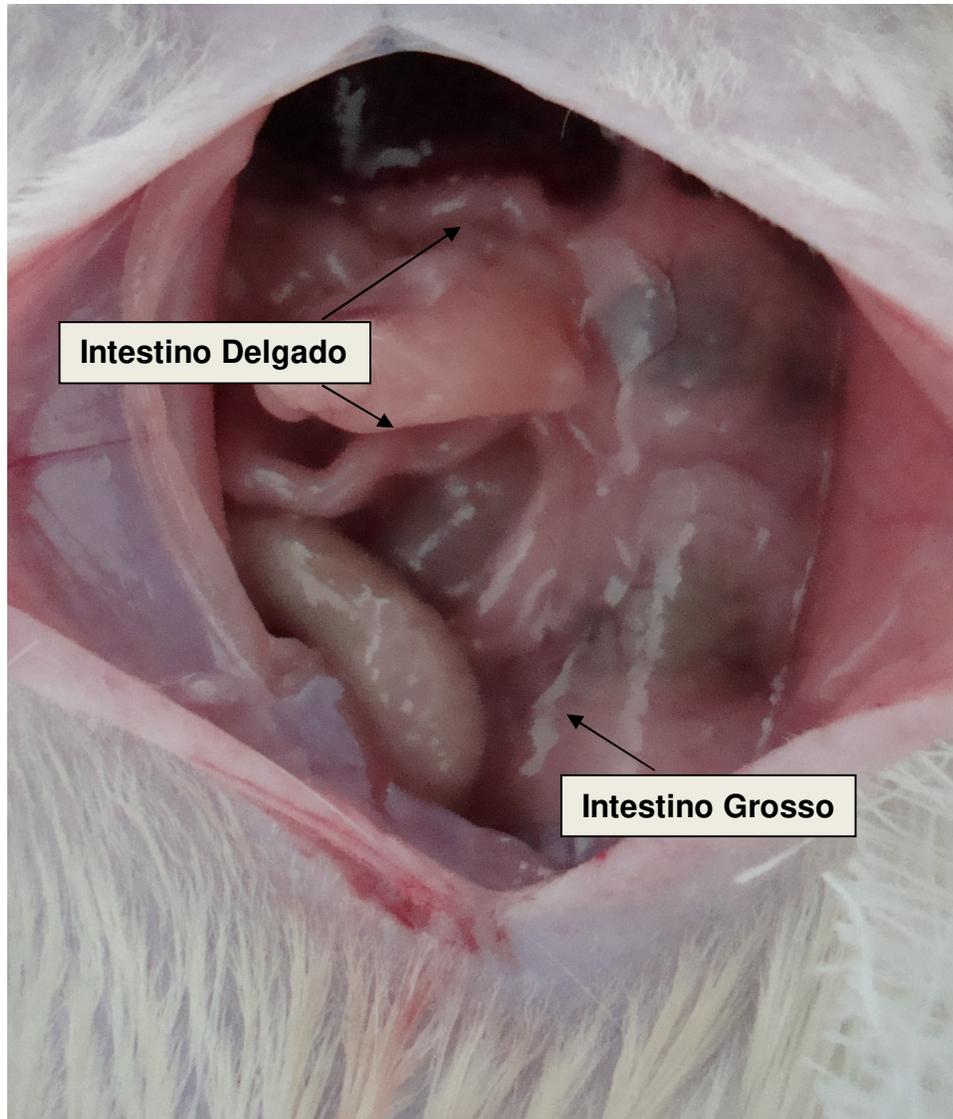


Figura 5. Anatomia normal do animal, com visão panorâmica após incisão na linha mediana ventral (95).

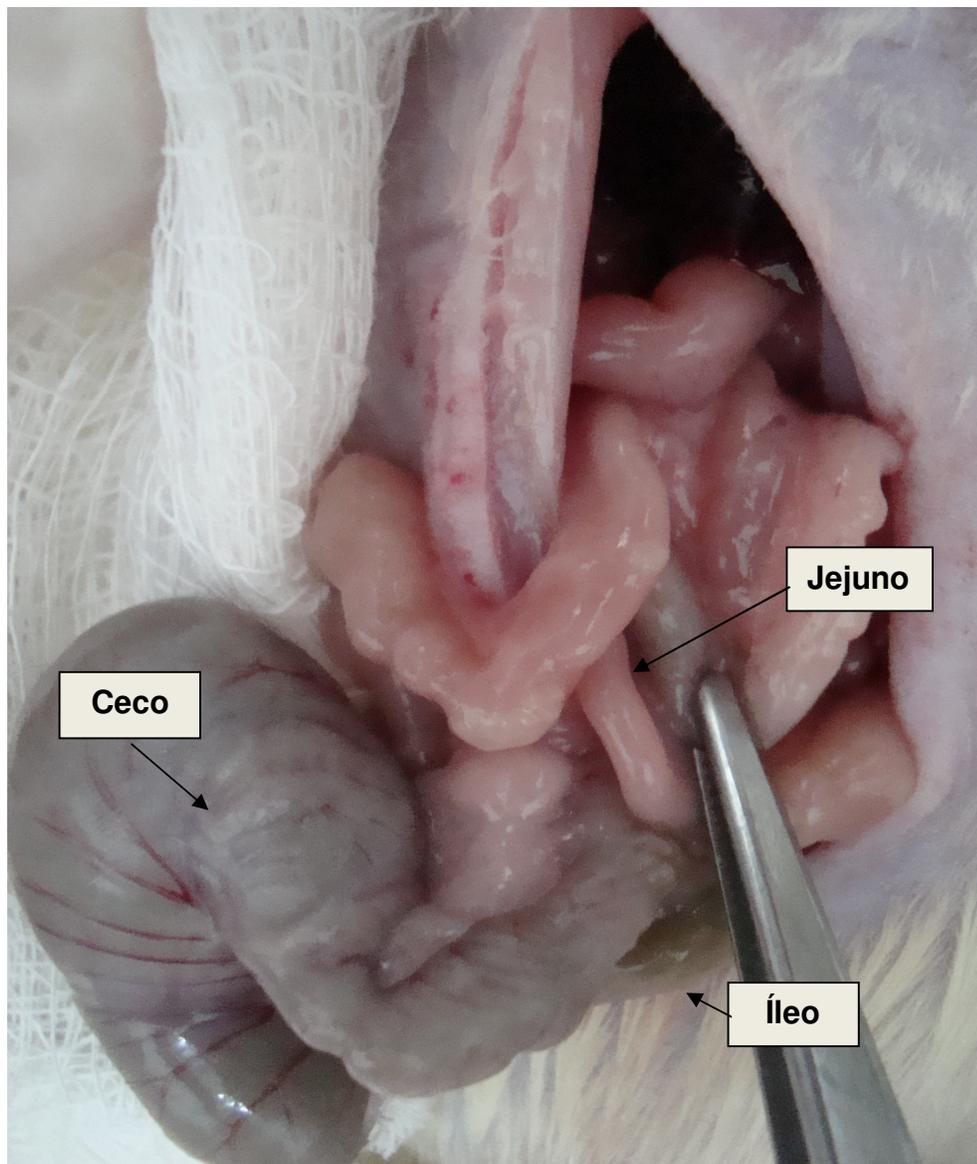


Figura 6. Exposição do ceco para localização do íleo terminal e jejuno para a anastomose jejuno-ileal (95).

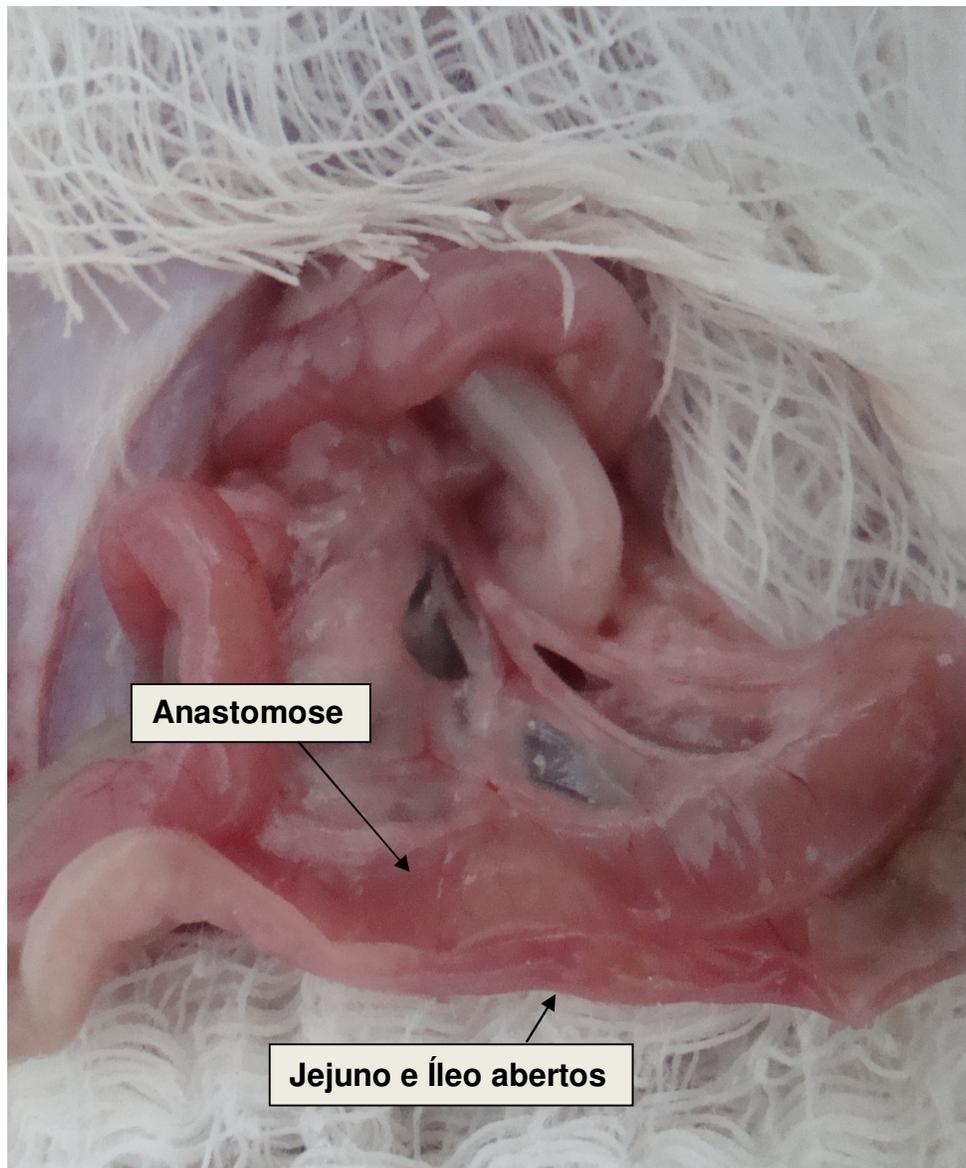


Figura 7. Exposição da luz do jejuno e íleo para o término da anastomose jejuno-ileal (95).



Figura 8. Demonstra a anastomose jejuno-ileal (95).

4.2.1 Materiais

Os materiais utilizados no procedimento foram:

- a) Tricotomia: Máquina para tricotomia Oster[®] - Golden A5[®] - Professional Collection 78005-010;
- b) Anestesia: utilizou-se como anestésico tiopental sódico (25mg/kg de peso) Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda - Campinas - São Paulo - Brasil, Lote: 09053466, sendo administrado através de um dispositivo para infusão intravenosa 23G, BD Asept[®], Becton Dickinson Ind. Cirúrgicas Ltda - Juiz de Fora - Minas Gerais - Brasil, Lote: 8276112.
- c) Materiais cirúrgicos: porta agulhas infantil, pinça anatômica e dente-de-rato delicadas, tesoura de Metzemaum delicada, tesoura reta, pinças mosquito curvas e retas e bisturi nº 4 contendo lâmina nº 23;
- d) Fio Polipropileno azul 4-0 - Não absorvível - 75cm - Agulha 1/2 - Techsuture Indústria e Comércio de Produtos Cirúrgicos Ltda - Bauru - São Paulo – Brasil, Lote: 05841208; utilizado para as anastomoses intestinais.
- e) Fio de Algodão com poliéster 4-0 – Não absorvível - 70cm – Agulha 3/8 - Techsuture Indústria e Comércio de Produtos Cirúrgicos Ltda - Bauru - São Paulo – Brasil, Lote: 00450107; utilizado para fechamento da parede abdominal do animal.

4.2.2 Cuidados pós-operatórios

Imediatamente após o término do procedimento cirúrgico os animais foram acondicionados ao lado de um aquecedor Marca LeLonghi Magnum, até total restabelecimento da anestesia. Em seguida, os animais foram recolocados nas respectivas gaiolas, sendo permitido ingerir via oral solução de glicose 5% (AZB0064 Viaflex, Baxter Hospitalar Ltda, São Paulo, São Paulo, Lote: PR126W6, “*ad libitum*” e depois de 24 horas tiveram livre acesso à ração (Ração Comercial Nuvital[®] Purina).

Quinze dias após o procedimento cirúrgico os animais passaram a receber a dieta formulada (Tabela 1), conforme protocolo estabelecido.

4.3 Dietas Experimentais

Segundo Reeves (60), a dieta é seguramente o fator mais importante na nutrição animal experimental, e portanto, quando o mecanismo de ação de um determinado nutriente está focalizado, o conhecimento preciso da composição dietética para o modelo animal é de suma importância.

A fase experimental teve o seu início 15 (quinze) dias após a cirurgia, com duração de 90 dias. Durante esta fase as dietas oferecidas foram elaboradas conforme o “American Institute of Nutrition”, AIN-93M (61) (Tabela 1). A suplementação de polidextrose (POLI) foi de 7,5g/100g de dieta de acordo com

cada grupo experimental. A suplementação de ferro (C1, G3 e G4) foi com Citrato de Ferro na concentração de (200 mg/Kg) de dieta (62). Ambas as suplementações (polidextrose e ferro) foram adicionadas à formulação padrão da dieta AIN-93M (61).

Após a elaboração das dietas experimentais, as mesmas foram peletizadas (Figura 9 a) e secas à 60°C em estufa com circulação e renovação de ar (Modelo MA-035-Marconi Equipamentos e Calibração para laboratórios) do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP (Figura 9 b e c). Esse procedimento foi realizado para facilitar a sua administração aos animais, visto que são roedores e também a dieta em pó apresenta maior desperdício.

a)



b)



c)



Figura 9. Peletização da dieta experimental (a) e Estufa ventilada usada para secagem da ração (b e c).

A caseína utilizada como fonte protéica foi da Plury Química Ltda, Diadema, São Paulo, fabricada pela *Naarden Agro Products-Holland*. O amido de milho, proveniente da Corn Products Brasil, Amisol[®] 3408, o amido dextrinizado da *Corn products* Brasil, MOR-REX[®] 1910. A sacarose da refinaria União[®]; o óleo de soja da marca Liza[®]; a fibra celulose de Microal[®], *Microcrystalline Cellulose* NF-9201. A L-cistina Synth C1027.01.AE, o Bitartarato de Colina marca Sigma[®] C1629; o Tertibutilhidroquinona marca Sigma[®] B9161. A mistura mineral (Tabela 2) foi elaborada no próprio laboratório sem adição do mineral ferro. O mesmo foi adicionado à formulação padrão de acordo com o grupo experimental. A mistura vitamínica (Tabela 3) foi elaborada em farmácia de manipulação. A polidextrose (Litesse Ultra) da Danisco Brasil Ltda – *Refined polydextrose powder*.

Tabela 1. Composição das dietas formuladas (g/kg) de acordo com a AIN-93M, (61).

Ingredientes	Sem ferro e sem PDX*	Com ferro**	Com PDX 7,5%***	Com ferro e com PDX 7,5%****
Amido	465,692	465,492	465,692	465,492
Amido dextrinizado	155,000	155,000	155,000	155,000
Caseína	140,000	140,000	140,000	140,000
Óleo de soja	40,000	40,000	40,000	40,000
Fibra (celulose)	50,000	50,000	50,000	50,000
Sacarose	100,000	100,00	25,00	25,00
Polidextrose (Poli)	0,000	00,00	75,00	75,00
Mix mineral sem adição de ferro	35,000	35,000	35,000	35,000
Mix vitamina	10,000	10,000	10,000	10,000
L-cistina	1,800	1,800	1,800	1,800
Bitartarato de colina	2,500	2,500	2,500	2,500
Ter-butil-hidroquinona	0,008	0,008	0,008	0,008
Citrato de ferro	0,00	0,2	0,00	0,2

* Sem adição de ferro e sem polidextrose

** Com adição de ferro

*** Com adição de polidextrose (7,5%)

**** Com adição de ferro e com polidextrose (7,5%)

Tabela 2. Composição da mistura mineral, adaptada de Reeves *et al.* (61).

Ingredientes	g/kg
Carbonato de Cálcio	357,00
Fosfato de potássio	250,00
Cloreto de Sódio	74,00
Sulfato de Potássio	46,60
Citrato de Potássio	28,00
Oxido de Magnésio	24,00
Citrato de ferro	0,00
Carbonato de zinco	1,65
Carbonato de manganês	0,63
Carbonato cúprico	0,30
Iodeto de Potássio	0,01
Selenato de sódio	0,010250
Fluoreto de Sódio Anidro	0,06
Molibdato de amônio	0,00795
Metasilicato de sódio	1,45
Sulfato de cromo e potássio	0,275
Cloreto de lítio	0,0174
Ácido bórico	0,0815
Fluoreto de sódio	0,0635
Carbonato de níquel	0,0318
Vanadato de amônio	0,0066
Excipiente	QSP

Tabela 3. Composição da mistura vitamínica, adaptada de Reeves *et al.* (61).

Ingredientes	g/kg
Ácido Nicotínico	3,00
Pantotenato de Cálcio	1,60
Piridoxina	0,70
Tiamina Cloridrato	0,60
Riboflavina	0,60
Acido Fólico	0,20
Biotina	0,02
Cianocobalamina 0,1%	2,50
Vitamina E -Acetato de Tocoferol (500UI/g)	15,00
Vitamina A Palmitato (500.000UI/g)	0,80
Vitamina D3 –Colecalciferol (400.000UI/g)	0,250
Vitamina K -Filoquinona	0,075
Maltodextrina	QSP

4.3.1 Acompanhamento do consumo de dieta e ganho de peso dos animais

A pesagem da dieta e dos animais foi realizada em balança semi-analítica digital Filizola - São Paulo, com capacidade para 2.000g e sensibilidade de 1g.

Durante a fase de crescimento, o ganho de peso dos animais foi verificado uma vez por semana com o objetivo de identificar o peso adequado para o procedimento cirúrgico (~ 250g). Nesse período não foi monitorado o consumo de ração.

No entanto, após o procedimento cirúrgico a verificação do ganho de peso dos animais foi monitorada 1 vez por semana. A monitoração do consumo de dieta foi realizada nos dias 25^o, 55^o, 85^o da fase experimental, durante três dias cada período, em que os animais estavam em gaiolas metabólicas individuais, considerando as perdas de ração dentro da gaiola (15).

4.3.2 Composição centesimal das dietas

Dieta comercial

A dieta comercial foi utilizada no início do experimento durante aproximadamente 30 dias, até os animais completarem 250g. A análise da composição da ração comercial foi realizada para confirmar as especificações do fabricante. A composição centesimal da dieta e as especificações do fabricante estão expressas na Tabela 4, respectivamente.

Tabela 4. Composição centesimal (g/100g) e valor energético (kcal/100g) da dieta comercial Nuvilab CR – 1; NUVITAL[®].

Componente químico	Composição analisada	Especificações fabricante
Sólidos totais	89,00 ± 0,25	87,50
Umidade	11,00 ± 0,25	12,50
Lípides totais	4,00 ± 0,25	4,00
Cinzas	8,07 ± 0,28	10,00
Proteínas	24,83 ± 0,70	22,00
Carboidratos *	52,10	51,50
Valor energético **	343,72	330,00

* Determinação de carboidratos foi feita por diferença. ** Calculado pela soma: (proteína bruta x 4) + (lípides totais x 9) + (carboidratos x 4).

Dieta formulada

Os resultados da determinação da composição centesimal das dietas experimentais estão expressos na Tabela 5. As composições centesimais das dietas utilizadas durante o período experimental não apresentaram diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$), sendo consideradas isoenergéticas e isoprotéicas.

* Sem adição de ferro e sem polidextrose

** Com adição de ferro

*** Com adição de polidextrose (7,5%)

**** Com adição de ferro e com polidextrose (7,5%)

Tabela 5. Composição centesimal (g/100g) e valor energético (kcal/100g) das dietas experimentais formuladas de acordo com a AIN-93M (61).

Componente químico	Sem ferro e		Com polidextrose	Com ferro e com polidextrose
	sem polidextrose	Com ferro		
Sólidos totais	91,10±0,20	91,05±0,21	90,09±0,10	91,87±0,12
Umidade	8,90±0,20	8,95±0,21	9,91±0,09	8,13±0,12
Lípides totais	4,10±0,09	4,04±0,09	3,83±0,16	4,16±0,16
Cinzas	2,56±0,03	2,52±0,18	2,29±0,13	2,39±0,05
Proteínas	11,82±0,20	12,07±0,17	12,09±0,06	12,05±0,24
Carboidratos *	72,62	72,42	71,88	73,27
Valor energético **	374,66	374,32	375,91	378,72

* Determinação de carboidratos foi feita por diferença. ** Calculado pela soma: (proteína bruta x4) + (lípidos totais x 9) + (carboidratos x 4).

4.4 Métodos analíticos

4.4.1 Determinação da composição centesimal da dieta

Umidade e cinzas: (63); Proteína: Kjeldahl (63); Lípidios: (64); Carboidratos: Por diferença; Ferro: foi realizado por laboratório especializado Biominerais Análises Químicas Ltda, Campinas - São Paulo, em Espectrômetro de Emissão (65, 66).

4.4.2 Ferro da dieta

Amostras de dieta foram armazenadas e as determinações de ferro foram realizadas em laboratório especializado, Biominerais Análises Químicas Ltda, Campinas - São Paulo, em Espectrômetro de Emissão (65,66).

4.4.3 Ferro fecal

Para a coleta das fezes os animais foram colocados em gaiolas metabólicas individuais. A coleta foi realizada nos dias 25^o, 55^o, 85^o da fase experimental, durante três dias cada período (66,67).

As fezes foram colocadas em estufa Oolidef-CZ à 60°C até peso constante. As determinações de ferro nas fezes foram realizadas em laboratório especializado, Biominerais Análises Químicas Ltda, Campinas - São Paulo, em Espectrômetro de Emissão (65,66).

4.4.4 Absorção aparente

A absorção aparente do ferro foi determinada pela seguinte equação (68).

Absorção aparente (mg/dia) = ingestão de ferro (mg/dia) - excreção de ferro fecal (mg/dia).

4.4.5 Hemograma (Hematócrito, hemoglobina, volume corpuscular médio e hemoglobina corpuscular média)

O sangue dos animais foi coletado com tubo capilar heparinizado – Perfecta, Indústria e Comércio de Lâminas de Vidro Ltda, São Paulo, São Paulo – Brasil), após os mesmos terem sido anestesiados, pela via retro-ocular. Foi utilizado para coleta Microtubo para Hematologia com EDTA-K3, Mini Collect, volume 0,5mL, tamanho 11x40mm, da Greiner Bio-one – Americana, São Paulo, Brasil - Lote 080805 CE: 269.

As amostras de sangue foram coletadas em 3 tempos:

- Tempo 1: corresponde às amostras coletadas 15 dias de pós-operatório (início da dieta experimental);
- Tempo 2: após 45 dias em dieta experimental;
- Tempo 3: após 90 dias em dieta experimental (corresponde às amostras coletadas no final do período experimental).

As análises foram realizadas em analisador hematológico Advia™ 120 - Bayer® (Irlanda), no Hemocentro (Divisão Hematológica) da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP, Campinas - São Paulo (66).

4.4.6 Coleta das amostras de sangue para dosagens séricas

Ao término do estudo os animais foram eutanasiados através de overdose de anestesia. Em seguida, o sangue do animal foi coletado e centrifugado à 2600rpm/20 min em centrífuga EXCELSA[®] Baby I - Modelo 206 - Fanem - São Paulo - Brasil para obtenção do soro e realização de todas as análises séricas (66).

Foi utilizado para coleta Tubo com Gel-Soro Ativador de Coagulação, Vacuette[®], Greiner Bio-one – Americana, São Paulo, Brasil - Lote C090816.

4.4.7 Ferro sérico

O conteúdo de ferro sérico foi determinado por ensaio colorimétrico (kit Marca Roche) no Laboratório de Hematologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP, Campinas - São Paulo.

4.4.8 Capacidade de ligação do ferro insaturada / *Unsaturated iron binding capacity (UIBC)*

A capacidade de ligação de ferro insaturada foi determinada por ensaio colorimétrico (Kit Marca Roche) no Laboratório de Hematologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP, Campinas - São Paulo.

4.4.9 Capacidade total de ligação de ferro/ *Total iron-binding capacity* (TIBC)

A capacidade total de ligação de ferro foi calculada pela seguinte equação:

$$\text{TIBC} = \text{Ferro sérico} + \text{Capacidade de ligação de ferro insaturada (UIBC)}.$$

4.4.10 Índice da saturação de transferrina (IST)

O índice de saturação de transferrina foi calculado pela seguinte equação (69):

$$\% \text{ IST} = \text{Ferro sérico} / \text{Capacidade total de ligação de ferro (TIBC)} \times 100$$

4.4.11 Ferritina sérica

A ferritina sérica foi determinada através de imunoensaio de electroquimioluminescência, no Laboratório de Hematologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP, Campinas - São Paulo.

4.4.12 Pesagem do fígado e Concentração de ferro do fígado

Após a eutanásia, o fígado dos animais foram extraídos e pesados. Em seguida, armazenados em freezer convencional à temperatura de -18 °C a -25 °C.

As determinações do conteúdo de ferro no fígado foram realizadas em laboratório especializado, Biominerais Análises Químicas Ltda, Campinas - São Paulo, em Espectrômetro de Emissão (9,62,65).

4.4.13 Histologia do fígado e de segmentos do intestino

Após a eutanásia os animais foram colocados em decúbito dorsal onde se procedeu à laparotomia mediana para retirada do fígado e liberação das alças intestinais do mesentério.

Após a retirada, o fígado foi colocado em solução fisiológica para extração de sangue acumulado e, em seguida, fragmentos do lobo maior foram colocados em grades histológicas para fixação. O intestino grosso foi preparado através da irrigação de sua luz com solução fisiológica para remoção de resíduos fecais, seguido de sua colocação em grades histológicas para fixação.

As amostras de fígado e de intestino foram fixadas em solução de formalina a 10% por 12 horas e depois mantidas em álcool 70% até o processamento histológico no Laboratório de Anatomia Patológica do NMCE.

Após a fixação em formalina tamponada a 10%, os espécimes foram desidratados em baterias de álcool e xilol. Após a diafanização, foram incluídos e parafinados, cortados em micrótomo com espessura de 5 mm cada e corados por hematoxilina-eosina (HE) (3).

A avaliação das peças foi realizada por Patologista especializado e foi utilizado o Microscópio Óptico Nikon modelo Eclipse E200 com câmara fotográfica Coolpix MDC Lens Nikon Japan, para captura das imagens, observadas através da objetiva com aumento de 4x. Os resultados foram discriminados em figuras e tabelas.

A esteatose hepática foi graduada quanto à intensidade em: ausente (sem esteatose), comprometendo menos de 5% dos hepatócitos; leve (grau 1), comprometimento de 5 a 33% dos hepatócitos; moderada (grau 2) presente em 33% até 66% dos hepatócitos; intensa (grau 3), acometimento acima de 66% dos hepatócitos (70).

As peças para avaliação histológica constituíram amostras seccionadas do fígado e de segmentos do intestino. Para o intestino, foi determinada uma nomenclatura (Figura 10) para cada segmento seccionado:

S1 – Íleo terminal antes do Ceco: entre a anastomose e o Ceco;

S2 - Cólon ascendente: a dois centímetros da junção com o ceco;

S3 - Cólon transverso: a três centímetros da flexura direita;

S4 - Cólon descendente: a três centímetros da flexura esquerda;

S5 - Reto: a três centímetros da margem externa do ânus.

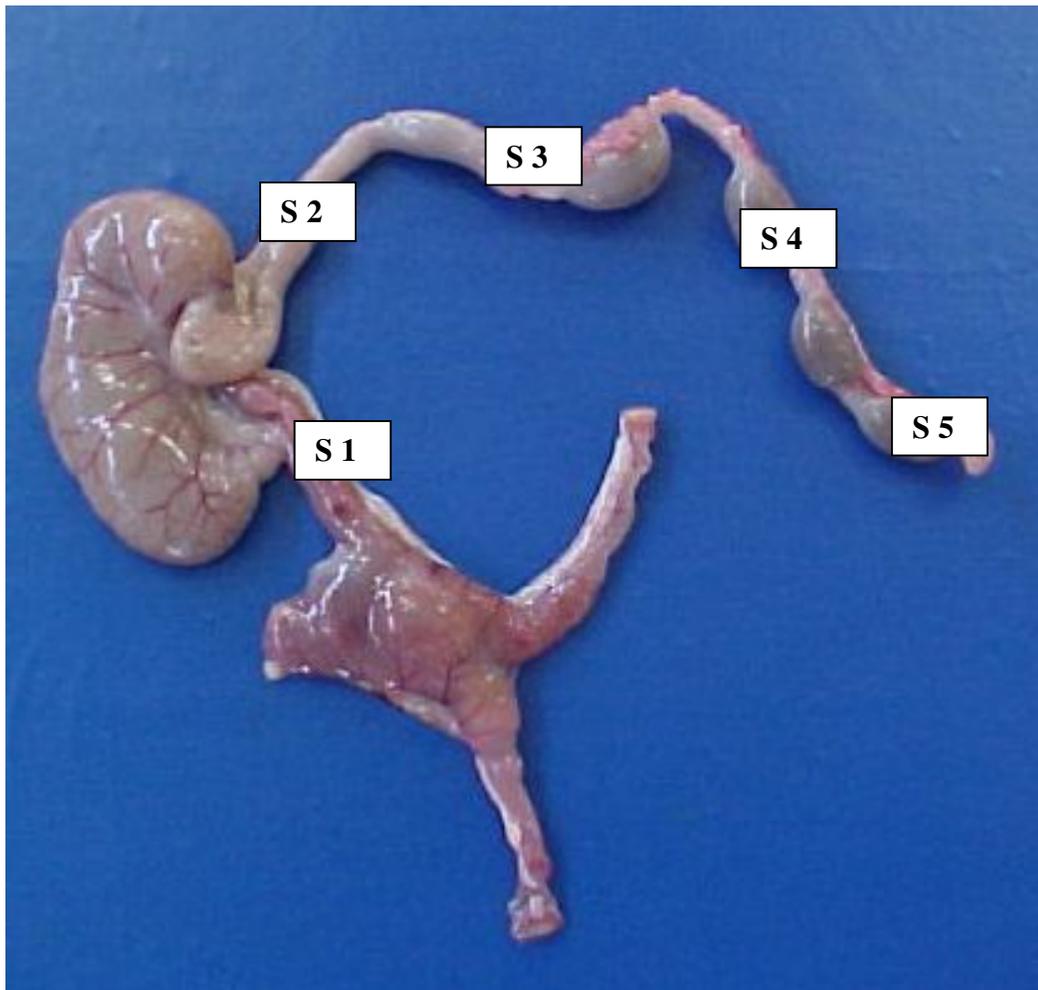


Figura 10. Identificação dos segmentos do intestino analisados.

4.5 Análise estatística

Foi utilizado o programa computacional SAS - *Statistical Analysis System*, (71). Apresentação gráfica por meio de médias e desvios padrão para visualizar o comportamento das medidas nos grupos e tratamentos.

Análise descritiva com apresentação de tabelas de freqüência para variáveis qualitativas e medidas de posição e dispersão para as variáveis quantitativas.

A comparação de variáveis quantitativas entre os grupos foi realizada através do teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis. Para a verificação de associação entre duas variáveis qualitativas foi utilizado o teste exato de Fisher.

Para a comparação das medidas, levando-se em consideração os momentos e os grupos (ou somente os grupos), foi utilizada a Análise de Variância (ANOVA) para medidas repetidas, seguida, quando necessário, por testes de comparações múltiplas. A transformação por postos foi aplicada às medidas devido à não-normalidade dos dados.

O nível de significância adotado para os testes estatísticos foi de 5%.

5 RESULTADOS

5.1 Monitoramento do peso dos animais

A Figura 11 apresenta a evolução ponderal dos animais no estágio inicial, antes do início do experimento propriamente dito, em que foram alimentados com a dieta comercial Nuvital®. É possível observar que apresentaram tendência linear durante o período de crescimento.

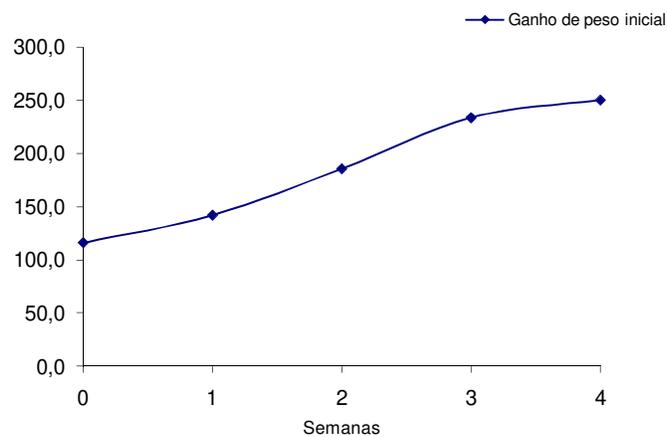


Figura 11. Evolução ponderal (g) dos animais no estágio inicial (antes do procedimento cirúrgico) alimentados com dieta comercial.

5.2 Peso dos animais

Na Tabela 6, está expresso o peso dos ratos estudados em valores médios e desvios padrão, durante os 90 dias de experimento. Foram calculados a média, desvio padrão, valores mínimo, mediano e máximo do peso dos ratos, conforme Quadro 1 do Apêndice 1.

Tabela 6. Valores médios (g) \pm desvio padrão (DP) de peso inicial, final e diferença de peso (ganho de peso) dos grupos experimentais.

Grupos	Peso Inicial	Peso final	Diferença peso
C1	280,0 \pm 14,0	502,8 \pm 28,7	222,8 \pm 19,9 a
C2	330,0 \pm 12,5	491,8 \pm 44,0	161,8 \pm 32,6 b
G3	239,5 \pm 21,6	299,4 \pm 40,7	64,6 \pm 49,7 c
G4	263,5 \pm 24,2	291,3 \pm 62,8	27,8 \pm 47,2 c
G5	249,9 \pm 11,8	302,4 \pm 32,0	52,5 \pm 27,9 c
G6	243,6 \pm 24,2	301,1 \pm 33,6	59,5 \pm 34,1 c
p-valor	p<0,0001	p<0,0001	p<,0,0001

C1=n6: Grupo sham (dieta formulada com ferro); **C2=n6:** Grupo controle (ração comercial); **G3=n12:** Operado + dieta formulada com ferro; **G4=n12:** Operado + dieta formulada com ferro e com povidexrose 7,5%; **G5=n11:** Operado + dieta formulada com povidexrose 7,5%; **G6=n12:** Operado + dieta formulada sem ferro e sem povidexrose.

De acordo com o teste de Kruskal-Wallis, pode-se afirmar que existem diferenças significantes no peso inicial, final e entre o peso final e inicial dos grupos estudados ($p<0,0001$).

Na Figura 12, estão apresentados o ganho de peso (g) dos animais durante os 90 dias da fase experimental. Observa-se que o ganho de peso se manteve constante em todos os grupos, porém pode-se afirmar que o grupo sham (C1) e controle (C2) apresentaram maior ganho de peso comparado aos grupos operados, o que também pode-se observar na Tabela 6.

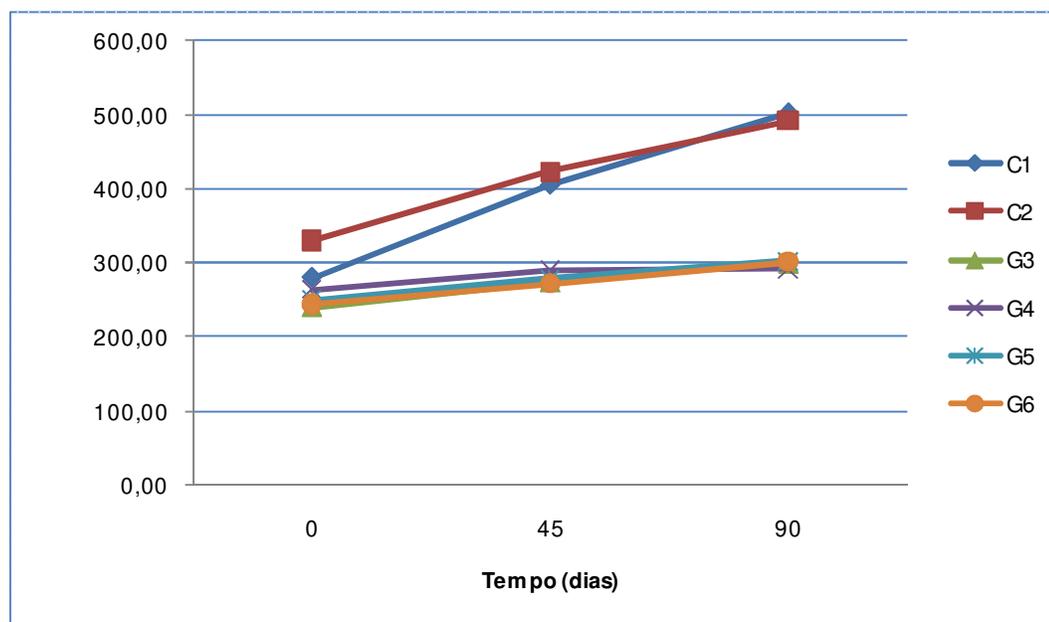


Figura 12. Evolução ponderal (g) dos animais durante todo o período experimental.

C1=n6: Grupo sham (dieta formulada com ferro); **C2=n6:** Grupo controle (ração comercial); **G3=n12:** Operado + dieta formulada com ferro; **G4=n12:** Operado + dieta formulada com ferro e com povidexrose 7,5%; **G5=n11:** Operado + dieta formulada com povidexrose 7,5%; **G6=n12:** Operado + dieta formulada sem ferro e sem povidexrose.

5.3 Dosagens séricas

Na Tabela 7, estão expressos os valores médios e desvio padrão das dosagens séricas (ferro sérico, capacidade de ligação de ferro insaturada-UIBC, capacidade total de ligação de ferro-TIBC, ferritina, índice de saturação de transferrina-IST). Foram calculados média, desvio padrão, valores mínimo, mediano e máximo dessas análises, conforme Quadro 5 do Apêndice 1.

Tabela 7. Valores médios \pm DP de ferro sérico, UIBC, TIBC, ferritina e IST dos grupos experimentais.

Grupos	Ferro sérico (ug/dL)	UIBC (ug/dL)	TIBC (ug/dL)	Ferritina (ug/L)	IST (%)
C1	191,5 \pm 24,0 a	295,0 \pm 17,2	486,5 \pm 33,4	0,80 \pm 0,7	39,2 \pm 3,1
C2	125,1 \pm 11,1 b	335,3 \pm 49,4	460,5 \pm 44,8	0,57 \pm 0,1	27,4 \pm 4,1
G3	188,0 \pm 86,1 ab	249,0 \pm 76,2	437,0 \pm 45,8	0,83 \pm 0,7	42,4 \pm 18,3
G4	127,2 \pm 47,5 ab	277,4 \pm 46,5	404,6 \pm 40,3	0,61 \pm 0,2	31,2 \pm 11,3
G5	177,7 \pm 77,7 ab	268,2 \pm 103,4	445,9 \pm 59,2	0,50 \pm 0,01	40,9 \pm 21,5
G6	135,3 \pm 60,8 ab	281,9 \pm 58,2	417,2 \pm 83,0	0,56 \pm 0,1	31,6 \pm 10,3
p-valor	p=0,0415	p=0,9918	p=0,1650	p=0,8335	p=0,1916

C1=n6: Grupo sham (dieta formulada com ferro); **C2=n6:** Grupo controle (ração comercial); **G3=n12:** Operado + dieta formulada com ferro; **G4=n12:** Operado + dieta formulada com ferro e com povidexrose 7,5%; **G5=n11:** Operado + dieta formulada com povidexrose 7,5%; **G6=n12:** Operado + dieta formulada sem ferro e sem povidexrose.

De acordo com a Análise de Variância (ANOVA), com transformação por postos, ajustados pelo peso inicial, para o UIBC, TIBC, ferritina e IST em relação aos grupos não foram detectadas nenhuma diferença estatisticamente significativa entre os pares de grupos, exceto para o ferro sérico que apresentou diferenças significantes entre os grupos ($p=0,0415$), sendo o grupo C1 e C2 maiores.

5.4 Hemograma

Na Tabela 8, estão expressos os valores médios e desvio padrão das dosagens de hemoglobina (g/dL) nos tempos zero (inicial), intermediário (45 dias) e final (90 dias) dos grupos experimentais. Foram calculados média, desvio padrão, valores mínimo, mediano e máximo dessas análises, conforme Quadro 5 do Apêndice 1.

Tabela 8. Valores médios \pm DP das dosagens de hemoglobina (g/dL) nos tempos zero (inicial), intermediário (45 dias) e final (90 dias) dos grupos experimentais.

Grupos	Hemoglobina (g/dL)		
	Inicial	45 dias	90 dias
C1	12,5 \pm 0,5	14,4 \pm 0,2	14,6 \pm 0,1 b
C2	12,5 \pm 0,5	14,9 \pm 0,6	16,2 \pm 0,5 a
G3	12,5 \pm 0,5	14,3 \pm 1,7	14,5 \pm 0,5 ab
G4	12,5 \pm 0,5	14,8 \pm 0,5	14,3 \pm 0,7 b
G5	12,5 \pm 0,5	14,4 \pm 0,8	15,2 \pm 0,9 a
G6	12,5 \pm 0,5	14,4 \pm 0,5	14,8 \pm 0,7 ab
<i>p-valor</i>			
Grupos	<i>p</i>>0,05	<i>p</i>>0,05	<i>p</i>=0,0432
Tempo	<i>p</i>=0,0147		
Grupo/Tempo	<i>p</i>=0,0050		

C1=n6: Grupo sham (dieta formulada com ferro); **C2=n6:** Grupo controle (ração comercial); **G3=n12:** Operado + dieta formulada com ferro; **G4=n12:** Operado + dieta formulada com ferro e com povidexrose 7,5%; **G5=n11:** Operado + dieta formulada com povidexrose 7,5%; **G6=n12:** Operado + dieta formulada sem ferro e sem povidexrose.

De acordo com a Análise de Variância (ANOVA), para medidas repetidas, com transformação por postos, ajustada pelo peso inicial, em relação aos grupos e aos tempos foram detectados diferença estatisticamente significativa ($p=0,0432$) para a hemoglobina entre os grupos no momento (90 dias), e ($p=0,0147$) para a variável tempo, sendo os grupos C1, C2 e G5 maior no tempo (90 dias) e o grupo G4 menor no tempo (90 dias).

Na Figura 13, estão expressas as dosagens de hemoglobina (g/dL) nos tempos zero (inicial), intermediário (45 dias) e final (90 dias) dos grupos experimentais.

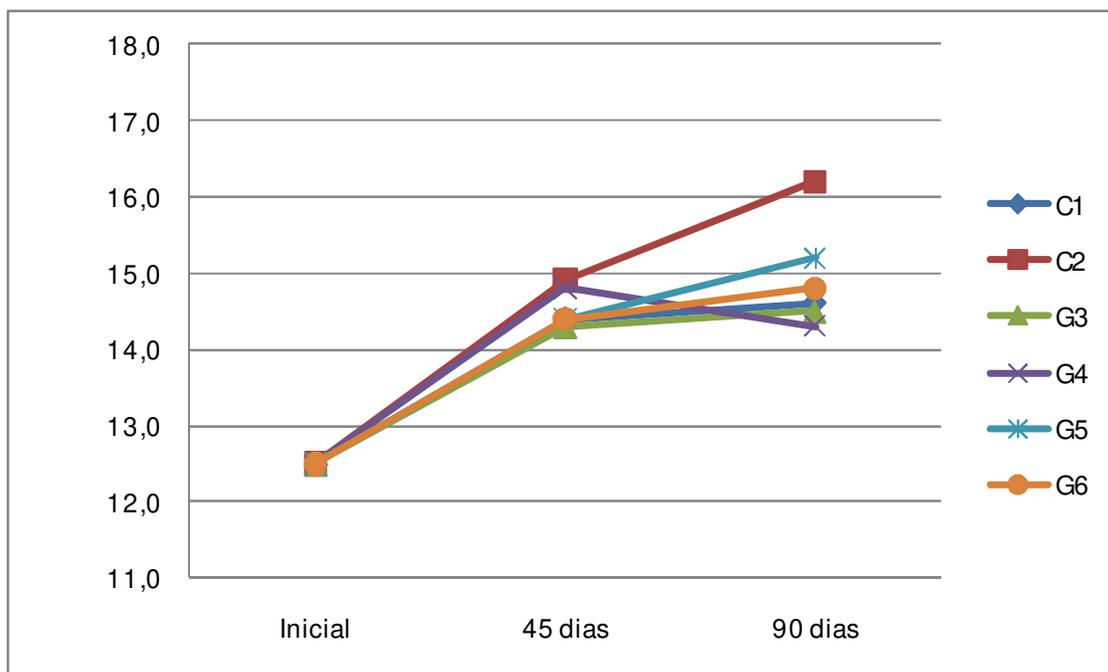


Figura 13. Dosagens de hemoglobina (g/dL) nos tempos zero (inicial), intermediário (45 dias) e final (90 dias) dos grupos experimentais.

C1=n6: Grupo sham (dieta formulada com ferro); **C2=n6:** Grupo controle (ração comercial); **G3=n12:** Operado + dieta formulada com ferro; **G4=n12:** Operado + dieta formulada com ferro e com povidexrose 7,5%; **G5=n11:** Operado + dieta formulada com povidexrose 7,5%; **G6=n12:** Operado + dieta formulada sem ferro e sem povidexrose.

Na Tabela 9, estão expressos os valores médios e desvio padrão das dosagens de hematócrito (%) nos tempos zero (inicial), intermediário (45 dias) e final (90 dias) dos grupos experimentais. Foram calculados média, desvio padrão,

valores mínimo, mediano e máximo dessas análises, conforme Quadro 5 do Apêndice 1.

Tabela 9. Valores médios \pm DP das dosagens de hematócrito (%) nos tempos zero (inicial), intermediário (45 dias) e final (90 dias) dos grupos experimentais.

Grupos	Hematócrito (%)		
	Inicial	45 dias	90 dias
C1	39,6 \pm 1,5	43,8 \pm 2,2 b	48,4 \pm 2,4 a
C2	39,6 \pm 1,5	46,4 \pm 1,9 a	48,8 \pm 2,3 a
G3	39,6 \pm 1,5	45,2 \pm 1,9 ab	46,8 \pm 2,4 ab
G4	39,6 \pm 1,5	44,8 \pm 1,7 b	43,4 \pm 3,3 b
G5	39,6 \pm 1,5	42,9 \pm 2,3 b	47,2 \pm 1,7 a
G6	39,6 \pm 1,5	43,6 \pm 2,4 b	46,5 \pm 4,9 ab
p-valor			
Grupos	p>0,05	p=0,0045	p=0,0045
Tempo	p=0,5325		
Grupo/Tempo	p=0,0049		

C1=n6: Grupo sham (dieta formulada com ferro); **C2=n6:** Grupo controle (ração comercial); **G3=n12:** Operado + dieta formulada com ferro; **G4=n12:** Operado + dieta formulada com ferro e com povidexrose 7,5%; **G5=n11:** Operado + dieta formulada com povidexrose 7,5%; **G6=n12:** Operado + dieta formulada sem ferro e sem povidexrose.

De acordo com a Análise de Variância (ANOVA), para medidas repetidas, com transformação por postos, ajustada pelo peso inicial, em relação aos grupos foram detectados diferença estatisticamente significativa ($p=0,0045$) para o hematócrito no momento (45 dias) e (90 dias), e para a variável tempo, não foram encontradas diferença estatisticamente significativa ($p=0,5325$).

Na Figura 14, estão expressas as dosagens de hematócrito (%) nos tempos zero (inicial), intermediário (45 dias) e final (90 dias) dos grupos experimentais.

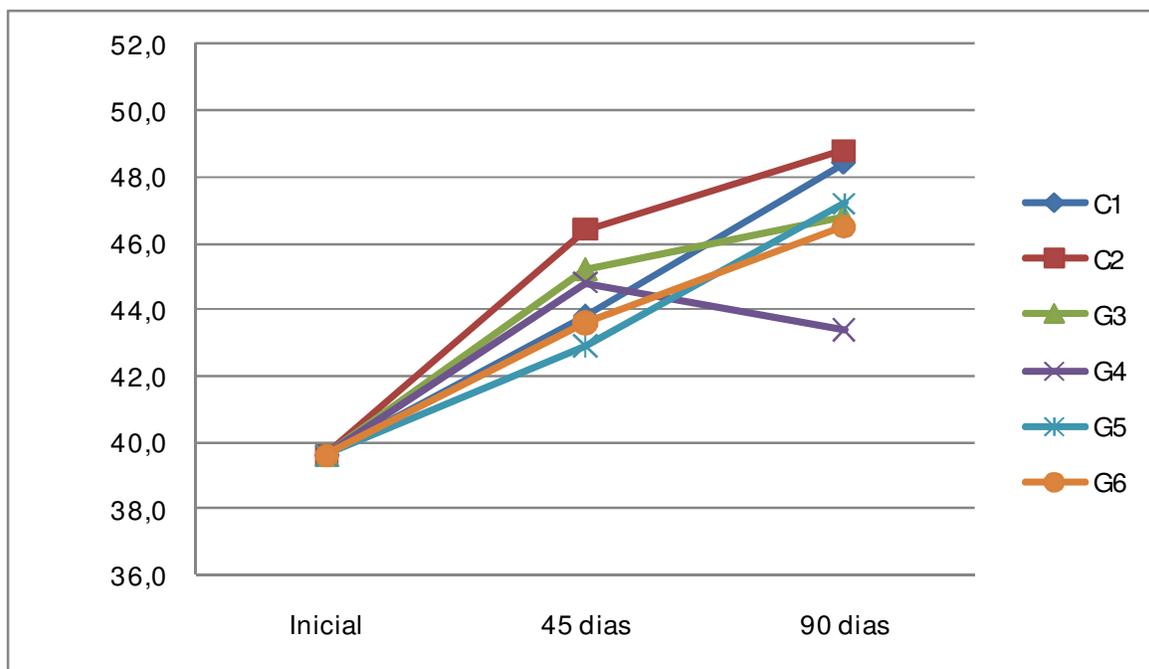


Figura 14. Dosagens de hematócrito (%) nos tempos zero (inicial), intermediário (45 dias) e final (90 dias) dos grupos experimentais.

C1=n6: Grupo sham (dieta formulada com ferro); **C2=n6:** Grupo controle (ração comercial); **G3=n12:** Operado + dieta formulada com ferro; **G4=n12:** Operado + dieta formulada com ferro e com povidexose 7,5%; **G5=n11:** Operado + dieta formulada com povidexose 7,5%; **G6=n12:** Operado + dieta formulada sem ferro e sem povidexose.

Na Tabela 10, estão expressos os valores médios e desvio padrão das dosagens de VCM (fL) nos tempos zero (inicial), intermediário (45 dias) e final (90

dias) dos grupos experimentais. Foram calculados média, desvio padrão, valores mínimo, mediano e máximo dessas análises, conforme Quadro 5 do Apêndice 1.

Tabela 10. Valores médios \pm DP das dosagens de VCM (fL) nos tempos zero (inicial), intermediário (45 dias) e final (90 dias) dos grupos experimentais.

Grupos	VCM (fL)		
	Inicial	45 dias	90 dias
C1	52,4 \pm 0,9	49,1 \pm 1,2	54,0 \pm 1,2 a
C2	52,4 \pm 0,9	50,2 \pm 0,8	50,0 \pm 0,9 ab
G3	52,4 \pm 0,9	50,1 \pm 1,3	50,6 \pm 2,6 bcd
G4	52,4 \pm 0,9	50,8 \pm 1,4	50,7 \pm 1,9 bc
G5	52,4 \pm 0,9	49,7 \pm 1,7	49,0 \pm 2,1 d
G6	52,4 \pm 0,9	49,6 \pm 1,0	49,7 \pm 3,5 cd
p-valor			
Grupos	p>0,05	p>0,05	p=0,0347
Tempo	p=0,0784		
Grupo/Tempo	p<0,0001		

C1=n6: Grupo sham (dieta formulada com ferro); **C2=n6:** Grupo controle (ração comercial); **G3=n12:** Operado + dieta formulada com ferro; **G4=n12:** Operado + dieta formulada com ferro e com povidexose 7,5%; **G5=n11:** Operado + dieta formulada com povidexose 7,5%; **G6=n12:** Operado + dieta formulada sem ferro e sem povidexose.

De acordo com a Análise de Variância (ANOVA), para medidas repetidas, com transformação por postos, ajustada pelo peso inicial, em relação aos grupos foram detectados diferença estatisticamente significativa ($p=0,0347$) para o VCM no momento (90 dias), e para a variável tempo, não foram encontradas diferença estatisticamente significativa ($p=0,0784$).

Na Figura 15, estão expressas as dosagens de VCM (fL) nos tempos zero (inicial), intermediário (45 dias) e final (90 dias) dos grupos experimentais.

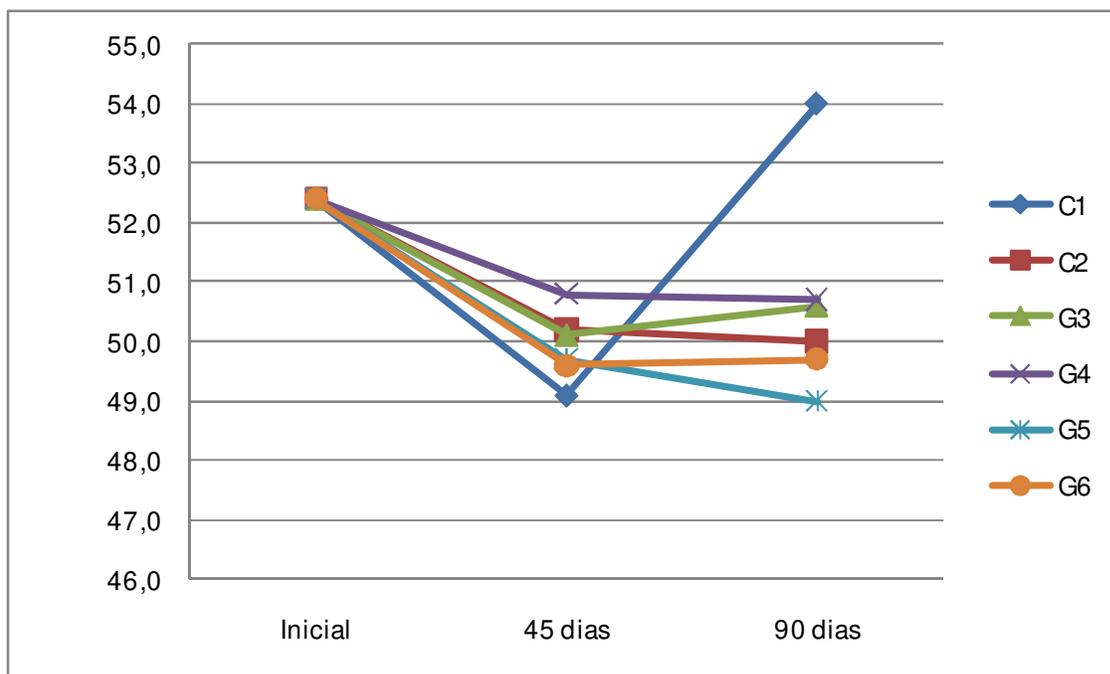


Figura 15. Dosagens de VCM (fL) nos tempos zero (inicial), intermediário (45 dias) e final (90 dias) dos grupos experimentais durante todo o período experimental.

C1=n6: Grupo sham (dieta formulada com ferro); **C2=n6:** Grupo controle (ração comercial); **G3=n12:** Operado + dieta formulada com ferro; **G4=n12:** Operado + dieta formulada com ferro e com povidexrose 7,5%; **G5=n11:** Operado + dieta formulada com povidexrose 7,5%; **G6=n12:** Operado + dieta formulada sem ferro e sem povidexrose.

Na Tabela 11, estão representados os valores médios e desvio padrão das dosagens de HCM (pg) nos tempos zero (inicial), intermediário (45 dias) e final (90

dias) dos grupos experimentais. Foram calculados média, desvio padrão, valores mínimo, mediano e máximo dessas análises, conforme Quadro 5 do Apêndice 1.

Tabela 11. Valores médios \pm DP das dosagens de HCM (pg) nos tempos zero (inicial), intermediário (45 dias) e final (90 dias) dos grupos experimentais.

Grupos	HCM (pg)		
	Inicial	45 dias	90 dias
C1	16,6 \pm 0,4	16,2 \pm 0,6	16,3 \pm 0,5
C2	16,6 \pm 0,4	16,1 \pm 0,3	16,7 \pm 0,9
G3	16,6 \pm 0,4	15,9 \pm 2,0	15,6 \pm 0,8
G4	16,6 \pm 0,4	16,8 \pm 0,7	16,8 \pm 1,5
G5	16,6 \pm 0,4	16,7 \pm 1,0	15,7 \pm 0,8
G6	16,6 \pm 0,4	16,4 \pm 0,8	15,9 \pm 1,0
p-valor			
Grupos	0,6724	0,6724	0,6724
Tempo	0,0161		
Grupo/Tempo	0,0188		

C1=n6: Grupo sham (dieta formulada com ferro); **C2=n6:** Grupo controle (ração comercial); **G3=n12:** Operado + dieta formulada com ferro; **G4=n12:** Operado + dieta formulada com ferro e com povidexose 7,5%; **G5=n11:** Operado + dieta formulada com povidexose 7,5%; **G6=n12:** Operado + dieta formulada sem ferro e sem povidexose.

De acordo com a Análise de Variância (ANOVA), para medidas repetidas, com transformação por postos, ajustada pelo peso inicial, em relação aos grupos não foram detectados diferença estatisticamente significante ($p=0,6724$) para o HCM. Para a variável tempo foram encontradas diferença significante ($p=0,0161$), sendo o grupo C2 maior no tempo (90 dias).

Na Figura 16, estão expressas as dosagens de HCM (pg) nos tempos zero (inicial), intermediário (45 dias) e final (90 dias) dos grupos experimentais.

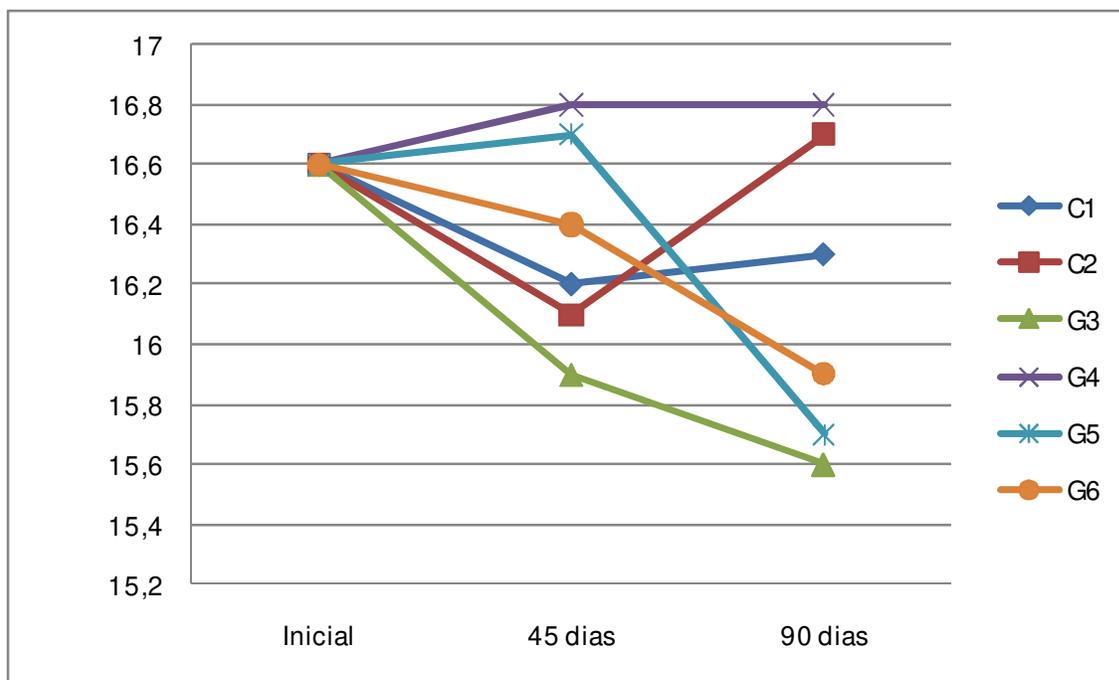


Figura 16. Dosagens de HCM (pg) nos tempos zero (inicial), intermediário (45 dias) e final (90 dias) dos grupos experimentais durante todo o período experimental.

C1=n6: Grupo sham (dieta formulada com ferro); **C2=n6:** Grupo controle (ração comercial); **G3=n12:** Operado + dieta formulada com ferro; **G4=n12:** Operado + dieta formulada com ferro e com povidexrose 7,5%; **G5=n11:** Operado + dieta formulada com povidexrose 7,5%; **G6=n12:** Operado + dieta formulada sem ferro e sem povidexrose.

5.5 Absorção aparente

Na Tabela 12, está expresso a análise descritiva para as variáveis absorção aparente de ferro e consumo diário de ração coletado no período de permanência nas gaiolas metabólicas. No entanto, foram calculados média, desvio padrão,

valores mínimo, mediano e máximo das variáveis absorção aparente de ferro, peso das fezes secas, excreção diária de ferro, consumo diário de ração e consumo diário de ferro, dos grupos, conforme Quadro 19 e 21 do Apêndice 1.

Tabela 12. Análise descritiva para a variável absorção aparente de ferro (mg/dia) e consumo diário de ração (g), nos grupos experimentais.

Grupos	Absorção aparente de ferro (mg/dia)	Consumo de ração (g/dia)
C1	0,17 ± 0,30	23,75 ± 4,42 b
C2	38,71 ± 10,82	32,86 ± 5,50 a
G3	-0,05 ± 0,24	22,96 ± 3,42 bcd
G4	0,17 ± 0,21	19,64 ± 4,43 d
G5	-0,30 ± 0,69	20,18 ± 4,52 cd
G6	-0,01 ± 0,23	23,74 ± 3,22 bc
p-valor Grupo	p=0,1550	p<0,0001
Tempo	p=0,1850	
Grupo/Tempo	p=0,1881	

C1=n6: Grupo sham (dieta formulada com ferro); **C2=n6:** Grupo controle (ração comercial); **G3=n6:** Operado + dieta formulada com ferro; **G4=n5:** Operado + dieta formulada com ferro e com povidexrose 7,5%; **G5=n6:** Operado + dieta formulada com povidexrose 7,5%; **G6=n6:** Operado + dieta formulada sem ferro e sem povidexrose. As coletas foram realizadas por um período de 3 dias consecutivos em gaiolas metabólicas, repetindo-se esse procedimento por 3 vezes (25°, 55° e 85° dias).

De acordo com a Análise de Variância (ANOVA), para medidas repetidas, com transformação por postos, ajustada pelo peso inicial, não foram detectados diferença significativa em relação aos grupos ($p=0,1550$) e aos tempos ($p=0,1850$)

para a absorção aparente de ferro. Entretanto para o consumo de ração (g/dia) houve diferença significativa ($p < 0,0001$) entre os grupos

Na Figura 17, estão expressos os valores médios e o DP do consumo de ração (g/dia) dos grupos experimentais.

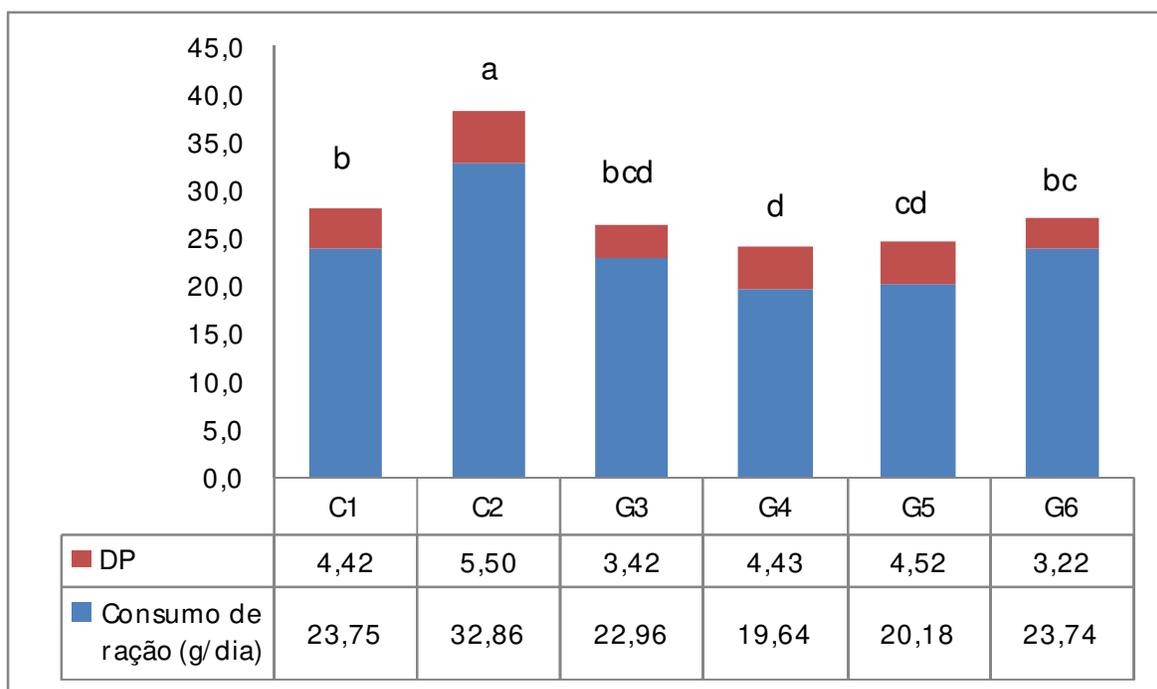


Figura 17. Consumo de ração (g/dia) \pm DP dos grupos experimentais.

C1=n6: Grupo sham (dieta formulada com ferro); **C2=n6:** Grupo controle (ração comercial); **G3=n12:** Operado + dieta formulada com ferro; **G4=n12:** Operado + dieta formulada com ferro e com povidexrose 7,5%; **G5=n11:** Operado + dieta formulada com povidexrose 7,5%; **G6=n12:** Operado + dieta formulada sem ferro e sem povidexrose. As coletas foram realizadas por um período de 3 dias consecutivos em gaiolas metabólicas, repetindo-se esse procedimento por 3 vezes (25°, 55° e 85° dias). Letras diferentes entre os grupos indicam diferença significativa ($p < 0,0001$).

5.6 Análises no fígado

Na Figura 18, estão expressos os valores médios e desvio padrão do peso do fígado. Foram calculados a média, desvio padrão, valores mínimo, mediano e máximo dessa análise, conforme Quadro 5 do Apêndice 1.

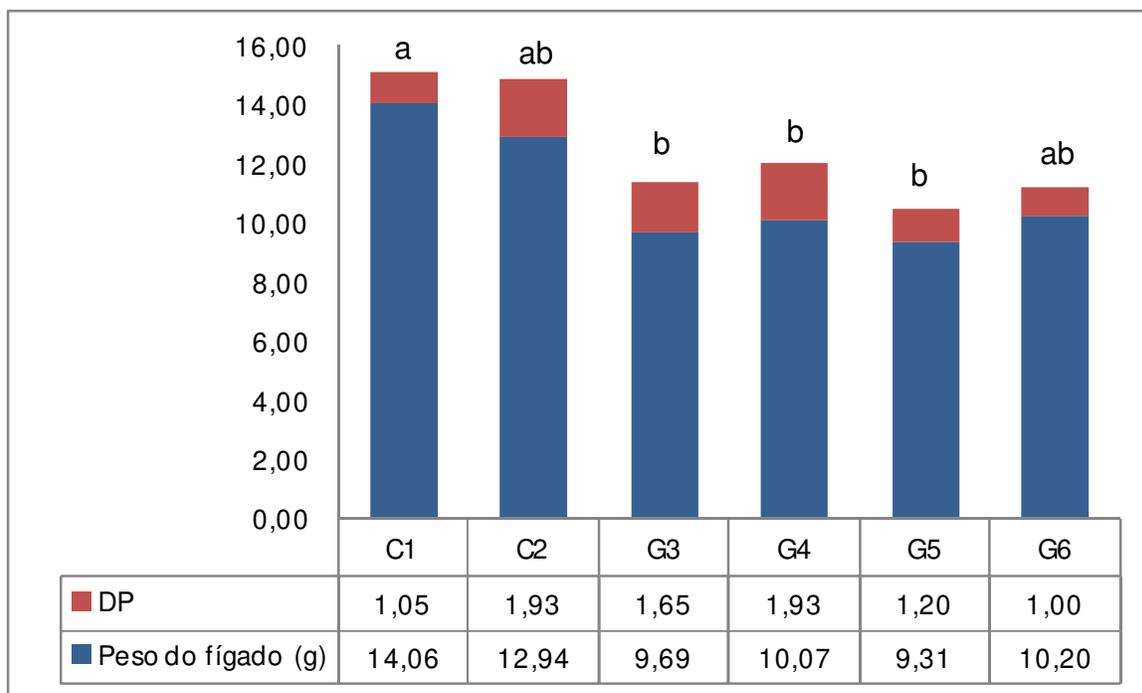


Figura 18. Peso (g) médio do fígado \pm DP dos grupos experimentais.

C1=n6: Grupo sham (dieta formulada com ferro); **C2=n6:** Grupo controle (ração comercial); **G3=n12:** Operado + dieta formulada com ferro; **G4=n12:** Operado + dieta formulada com ferro e com povidexrose 7,5%; **G5=n11:** Operado + dieta formulada com povidexrose 7,5%; **G6=n12:** Operado + dieta formulada sem ferro e sem povidexrose. Letras diferentes entre os grupos indicam diferença significativa ($p=0,0007$).

De acordo com a Análise de Variância (ANOVA), com transformação por postos, ajustados pelo peso inicial, em relação aos grupos foram detectados diferença estatisticamente significativa ($p=0,0007$) entre os grupos.

Na Figura 19, estão expressos os valores médios e desvio padrão da dosagem de ferro no fígado. Foram calculados a média, desvio padrão, valores mínimo, mediano e máximo dessa análise, conforme Quadro 5 do Apêndice 1.

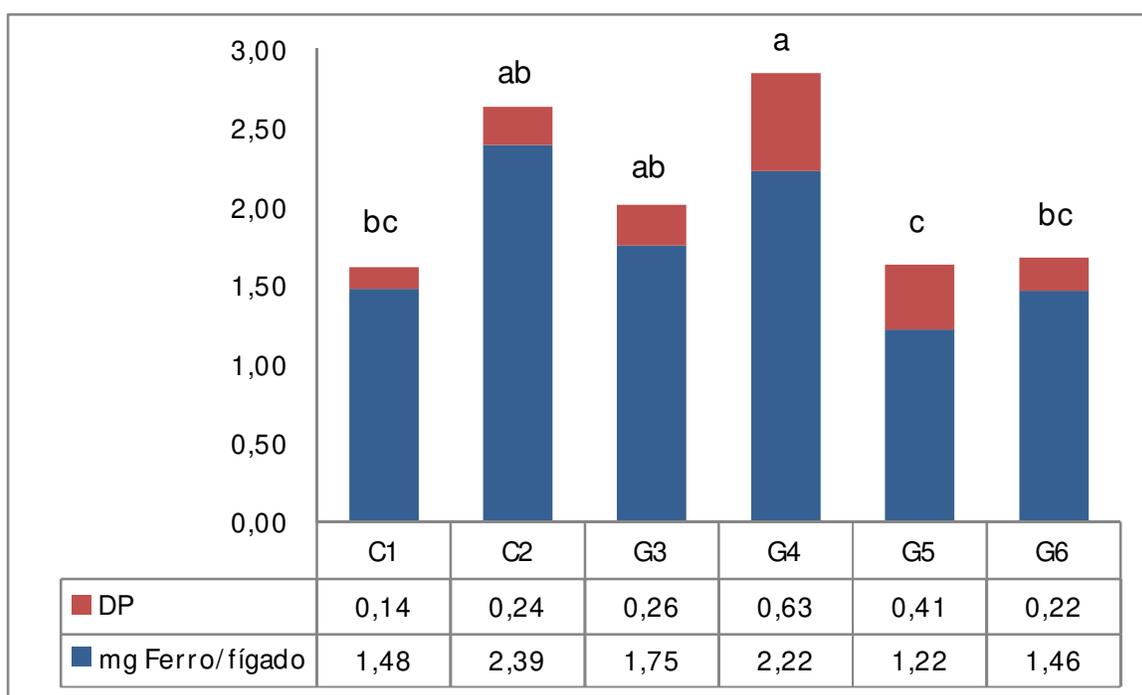


Figura 19. Concentrações médias \pm DP de ferro no fígado (mg/fígado) dos grupos experimentais.

C1=n6: Grupo sham (dieta formulada com ferro); **C2=n6:** Grupo controle (ração comercial); **G3=n12:** Operado + dieta formulada com ferro; **G4=n12:** Operado + dieta formulada com ferro e com povidexrose 7,5%; **G5=n11:** Operado + dieta formulada com povidexrose 7,5%; **G6=n12:** Operado + dieta formulada sem ferro e sem povidexrose. Letras diferentes entre os grupos indicam diferença significativa ($p < 0,0001$).

De acordo com a Análise de Variância (ANOVA), com transformação por postos, ajustados pelo peso inicial, em relação aos grupos foram detectados diferença estatisticamente significativa ($p < 0,0001$) entre os grupos.

5.7 Histologia do Fígado

Na Tabela 13, está expressa a análise descritiva da freqüência de esteatose hepática nos grupos experimentais. (Ver quadro 6 do Apêndice 1)

Tabela 13. Freqüência e percentual (%) de esteatose hepática nos grupos experimentais.

Grupos	Esteatose hepática				Total
	Sem esteatose	Grau 1	Grau 2	Grau 3	
C1	6 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	6 (100,0)
C2	5 (83,3)	1 (16,7)	0 (0,0)	0 (0,0)	6 (100,0)
G3	4 (33,3)	7 (58,4)	0 (0,0)	1 (8,3)	12 (100,0)
G4	4 (33,3)	3 (25,0)	2 (16,7)	3 (25,0)	12 (100,0)
G5	1 (9,1)	5 (45,4)	2 (18,2)	3 (27,3)	11 (100,0)
G6	2 (16,7)	4 (33,3)	2 (16,7)	4 (33,3)	12 (100,0)
Total	22 (37,3%)	20 (33,9%)	6 (10,2%)	11 (18,6%)	59 (100%)

C1=n6: Grupo sham (dieta formulada com ferro); **C2=n6:** Grupo controle (ração comercial); **G3=n12:** Operado + dieta formulada com ferro; **G4=n12:** Operado + dieta formulada com ferro e com polidextrose 7,5%; **G5=n11:** Operado + dieta formulada com polidextrose 7,5%; **G6=n12:** Operado + dieta formulada sem ferro e sem polidextrose.

Na Figura 20, está representado uma análise conjunta entre as variáveis esteatose e grupo, considerando animais que não apresentaram esteatose (sem esteatose) e animais que apresentaram esteatose (grau 1 ou grau 2 ou grau3), conforme Quadro 6 do Apêndice 1.

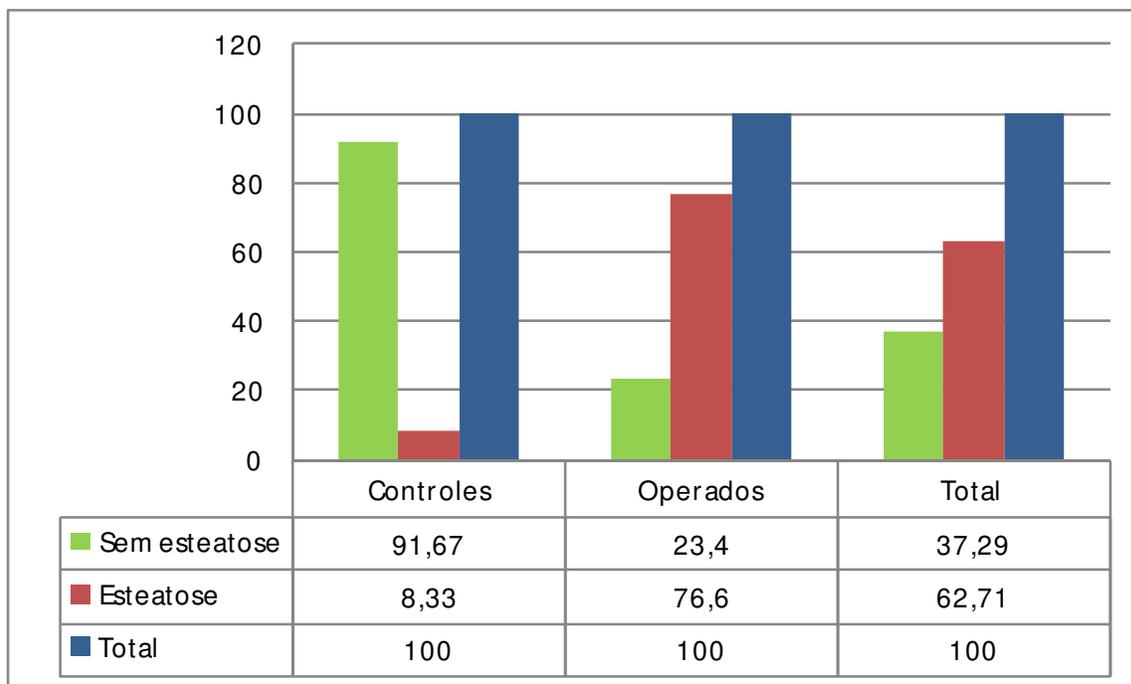


Figura 20. Valores relativos (%) da análise conjunta entre as variáveis esteatose e grupo

Animais que não apresentaram esteatose (sem esteatose) e animais que apresentaram esteatose (grau 1, ou grau 2 ou grau3).

De acordo com o teste exato de Fisher foram detectadas diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,0001$) para a presença ou não de esteatose hepática entre os grupos experimentais.

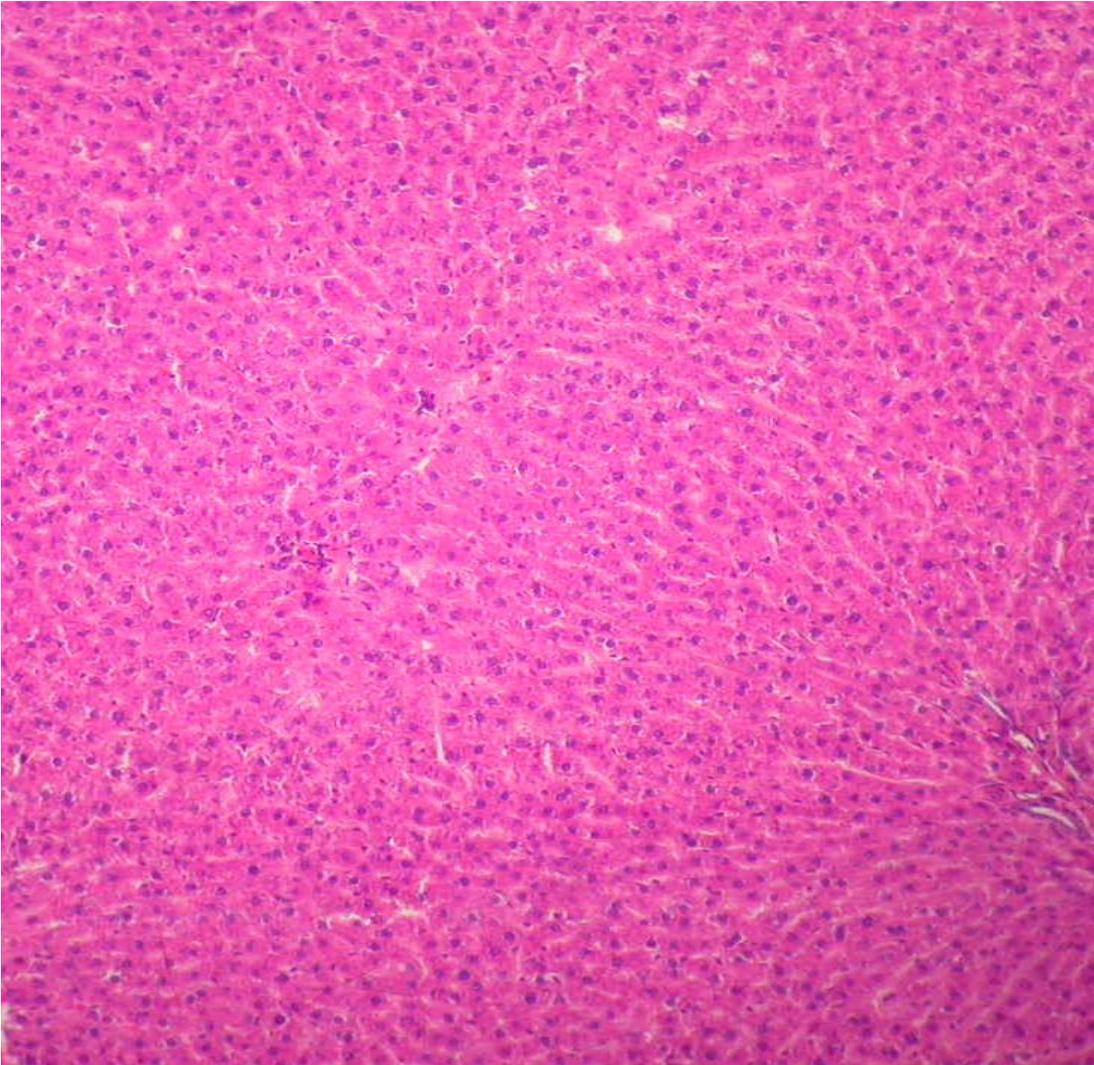


Figura 21. Aspecto histológico do fígado, mostrando normalidade nas estruturas.
(HE 10x)

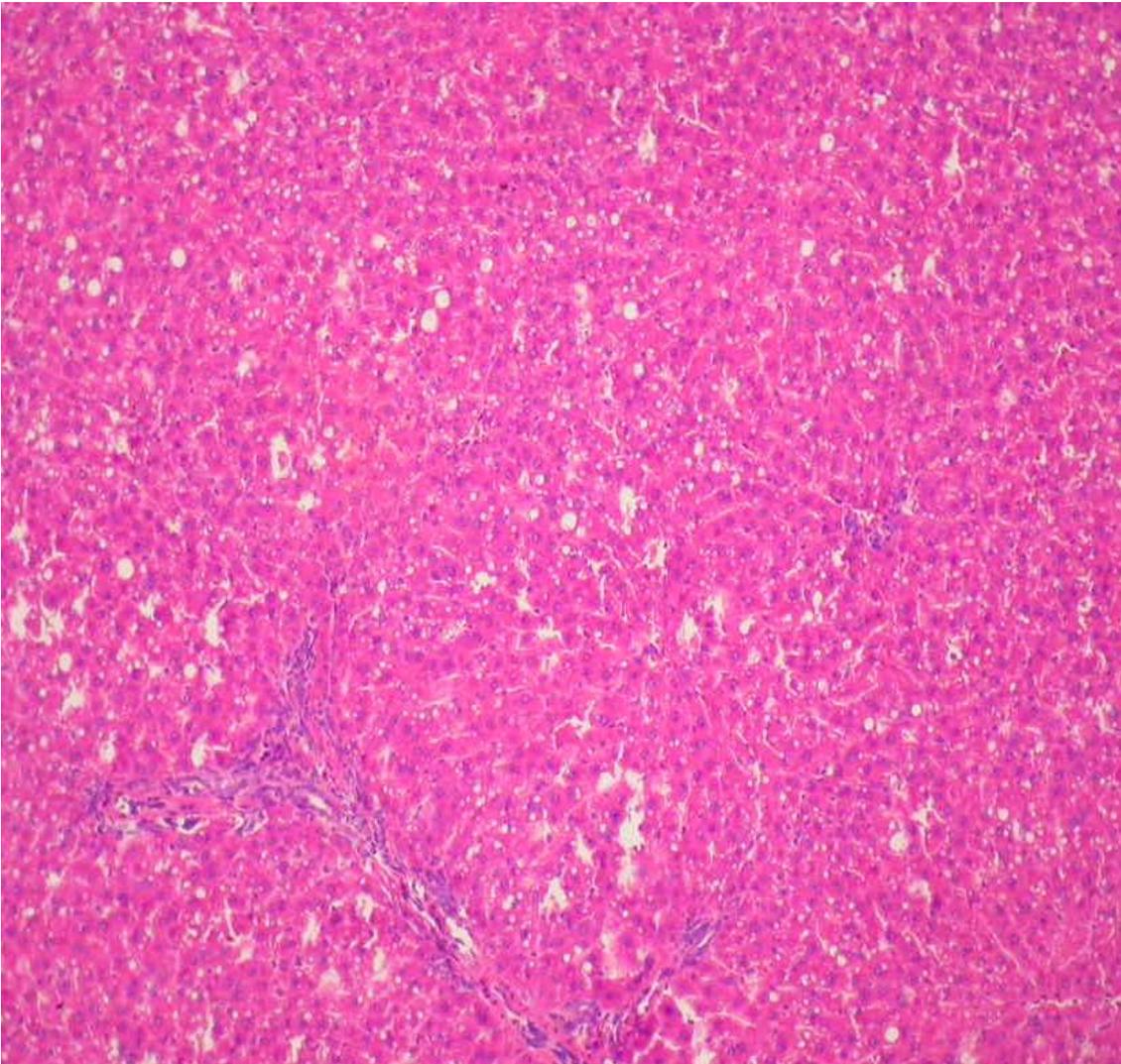


Figura 22. Aspecto histológico do fígado, mostrando esteatose leve (Grau 1). (HE 10x)

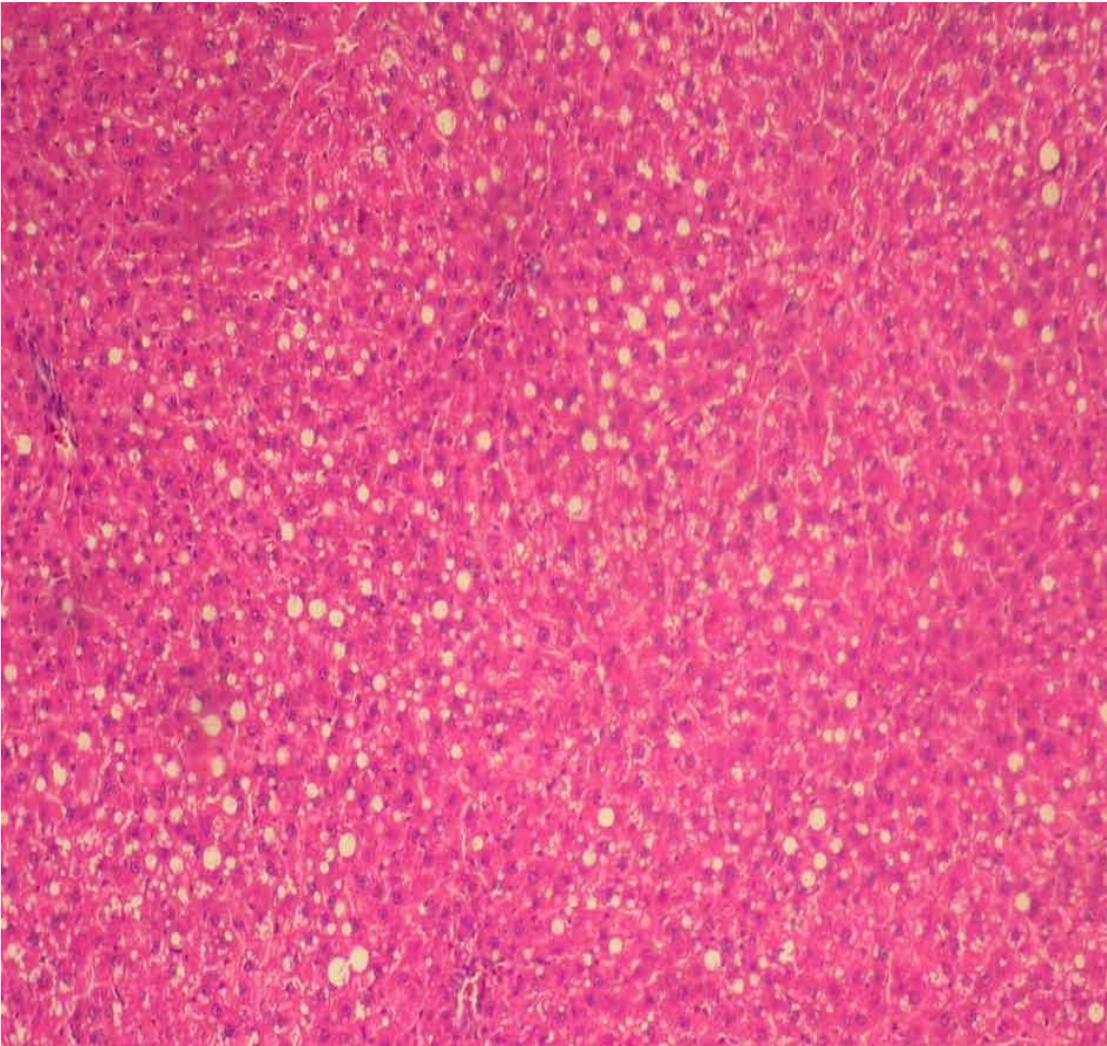


Figura 23. Aspecto histológico do fígado, mostrando esteatose moderada (Grau 2).
(HE 10x).

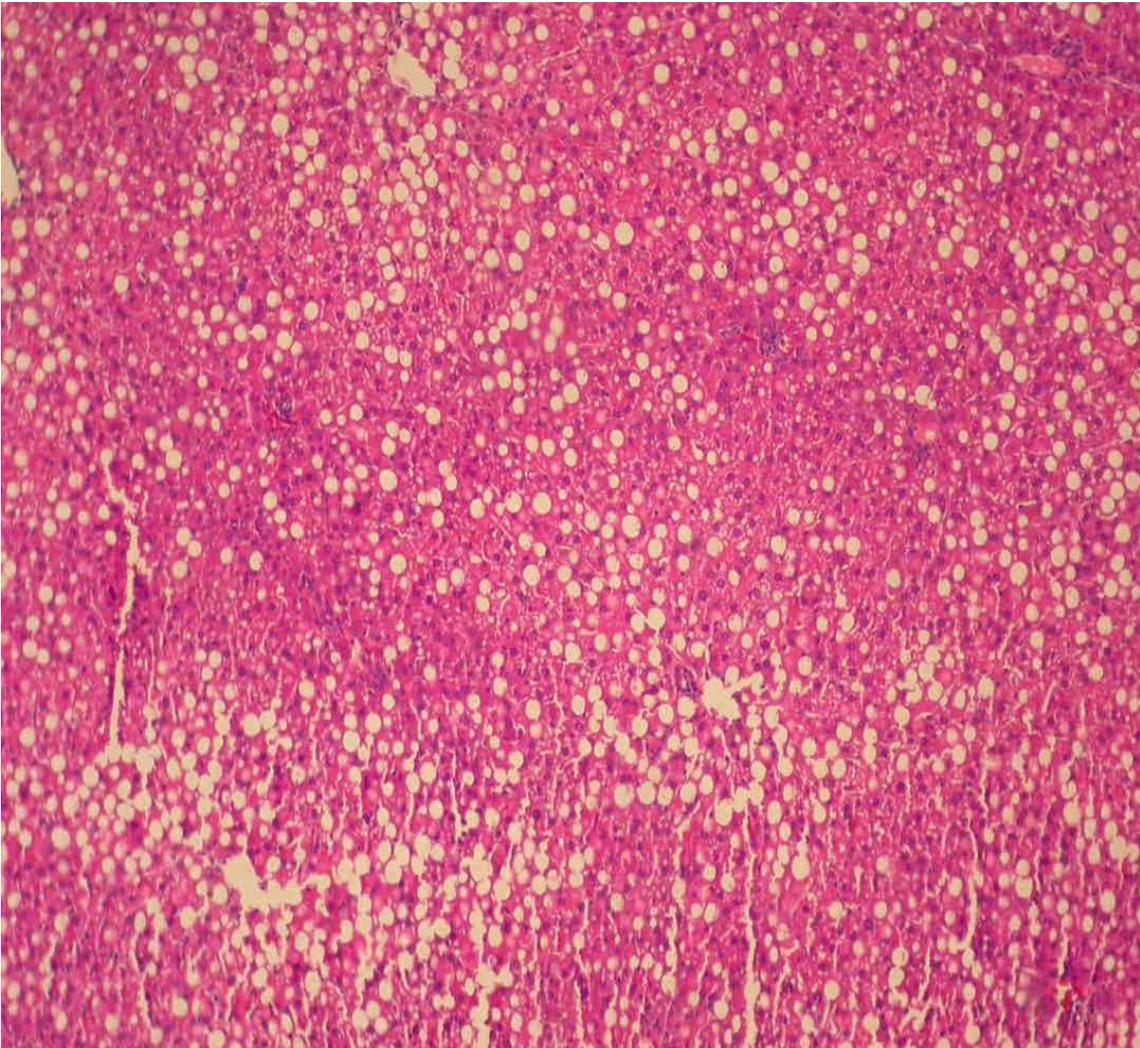


Figura 24. Aspecto histológico do fígado, mostrando esteatose intensa (Grau 3).
(HE 10x).

5.8 Histologia do Intestino

Na análise histológica dos segmentos intestinais não foi observada alteração, mostrando preservação das estruturas, como nota-se nas figuras abaixo.

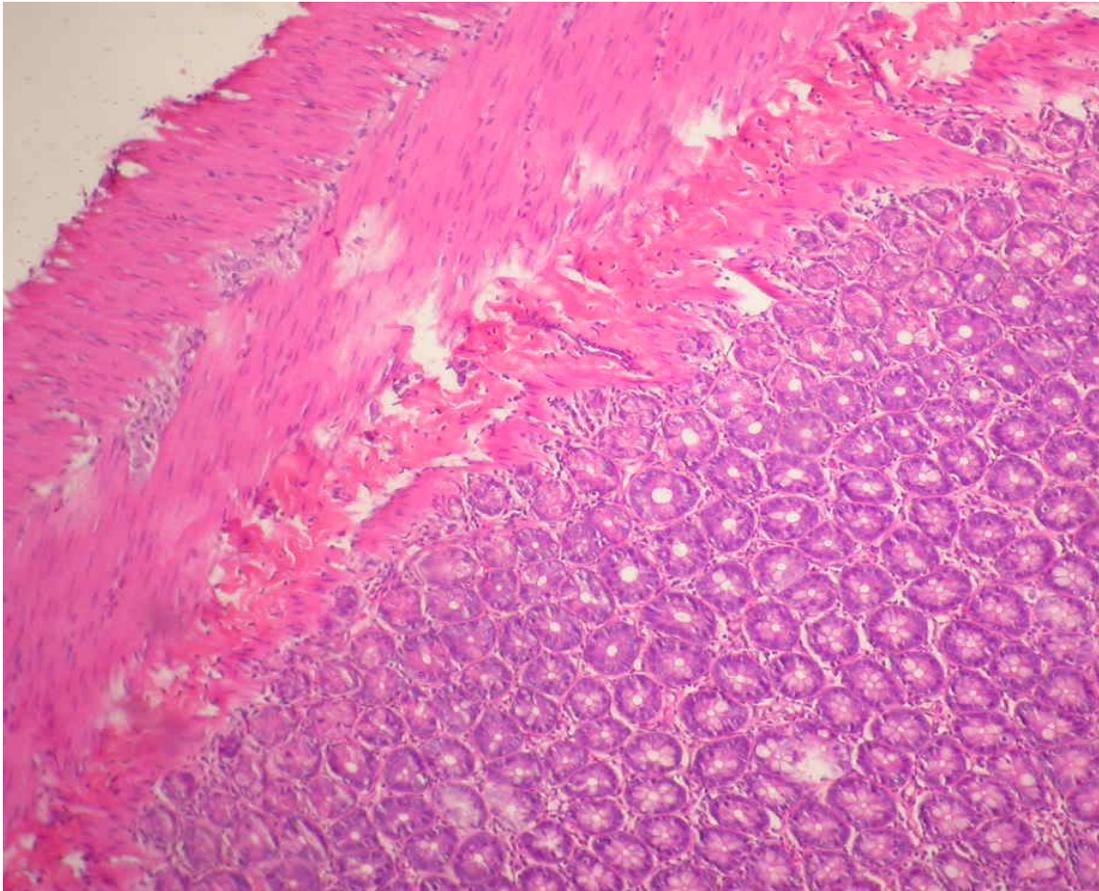


Figura 25. Aspecto histológico do intestino no segmento S1, do animal 37 do grupo C2 (controle/ração comercial), mostrando preservação das estruturas. (HE 10x)

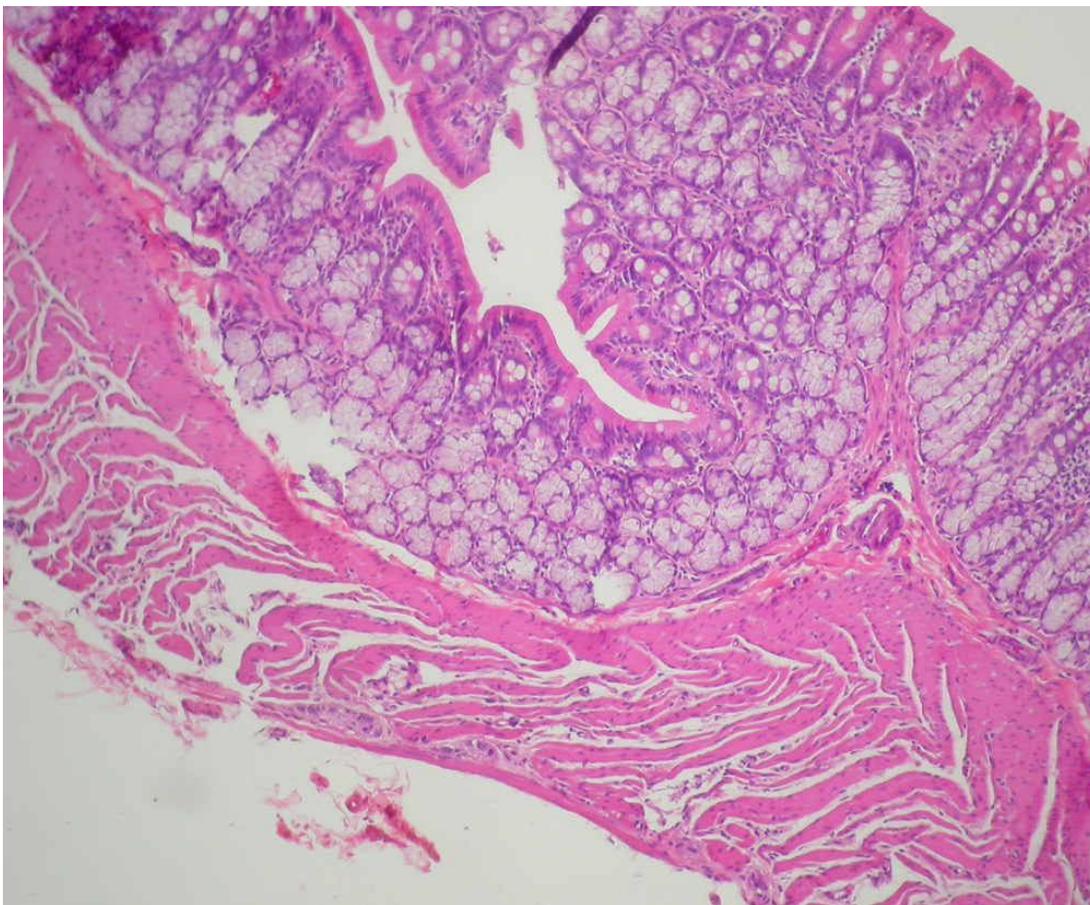


Figura 26. Aspecto histológico do intestino no segmento S2, do animal 37 do grupo C2 (controle/ração comercial), mostrando preservação das estruturas. (HE 10x)

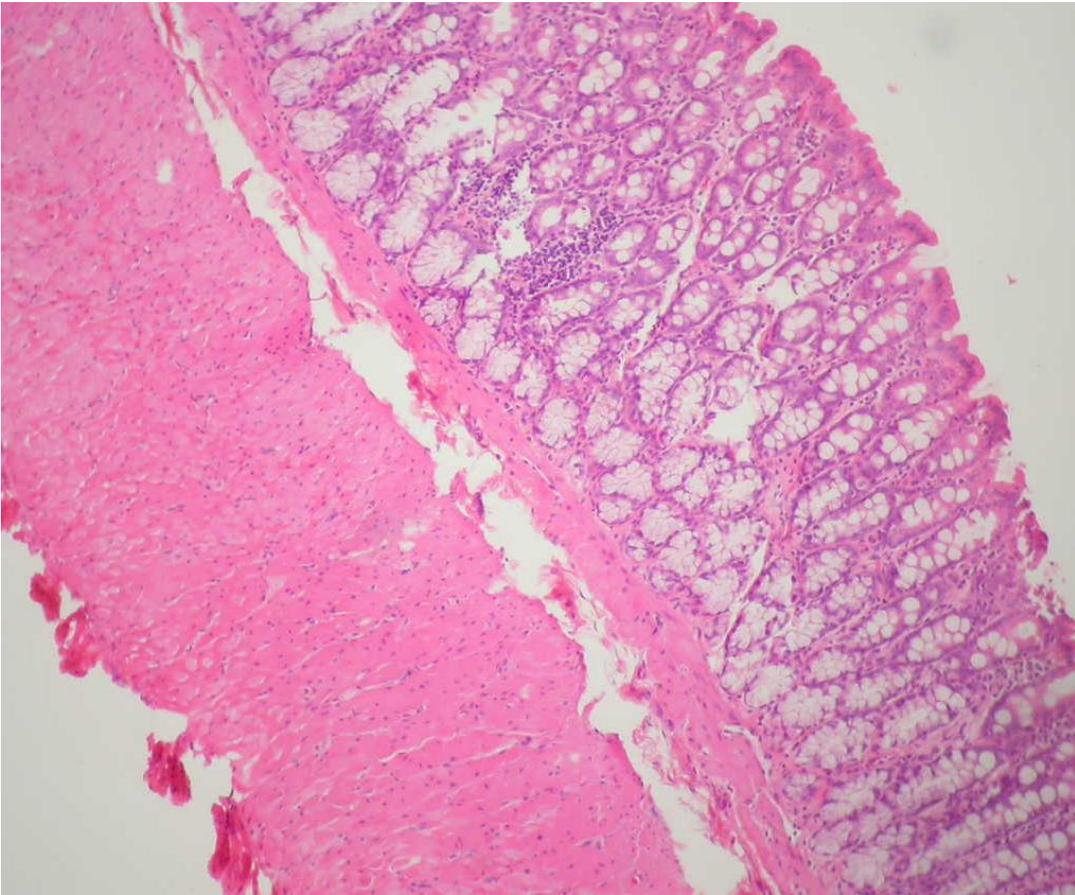


Figura 27. Aspecto histológico do intestino no segmento S3, do animal 37 do grupo C2 (controle/ração comercial), mostrando preservação das estruturas. (HE 10x)

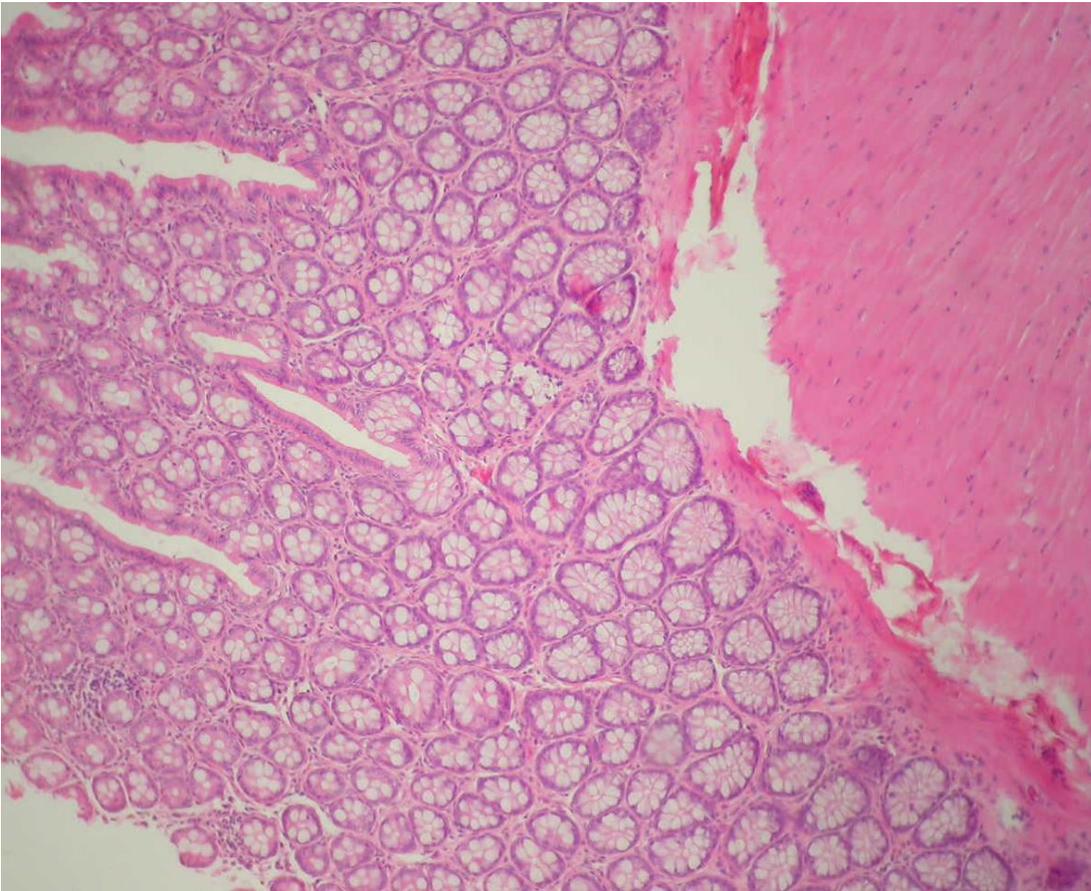


Figura 28. Aspecto histológico do intestino no segmento S4, do animal 37 do grupo C2 (controle/ração comercial), mostrando preservação das estruturas. (HE 10x)

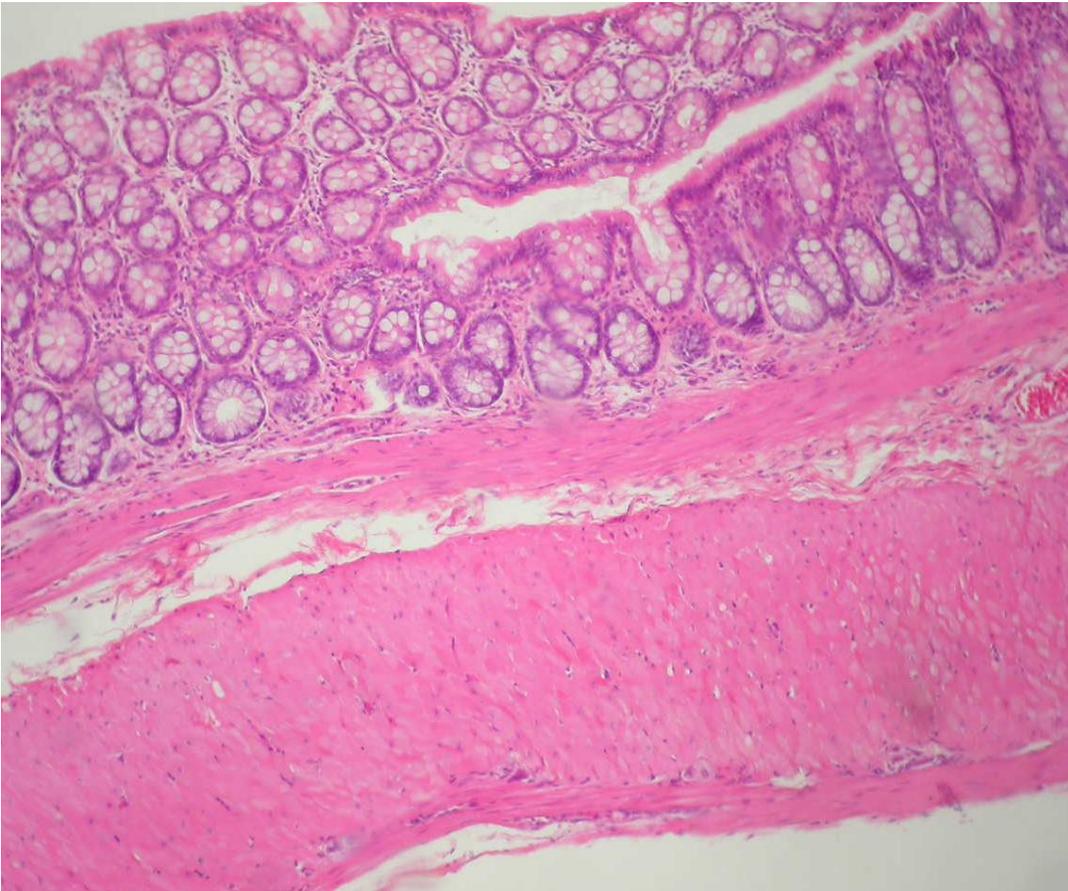


Figura 29. Aspecto histológico do intestino no segmento S5, do animal 37 do grupo C2 (controle/ração comercial), mostrando preservação das estruturas. (HE 10x)

6 DISCUSSÃO

Na pesquisa em experimentação animal é necessário conhecimento técnico adequado e alto rigor ético do pesquisador. O pesquisador deve conhecer muito bem a biologia da espécie utilizada, ter consciência da importância de seu trabalho, de suas conclusões e seus limites, podendo beneficiar ou prejudicar centenas de milhares de pessoas. Além disso, os resultados e conclusões obtidos em animais de laboratório, nem sempre podem ser transpostos para os humanos, mas certamente que abrem uma luz sobre muitas questões e também orientam novos experimentos e pesquisas envolvendo seres humanos.

A obesidade é atualmente um dos mais graves problemas de saúde pública. A prevalência da obesidade tem crescido acentuadamente nas últimas décadas, tanto nos países desenvolvidos como naqueles em desenvolvimento. Estatísticas recentes a levaram à condição de epidemia global, de acordo com Organização Mundial de Saúde (72). Sua prevalência vem crescendo acentuadamente nas últimas décadas e os custos com suas complicações atingem cifras de bilhões de dólares (73).

Entretanto, a melhor opção de tratamento, que leva à perda de peso e sua manutenção prolongada em baixos níveis, têm sido ofertadas pela cirurgia (3). E neste contexto, a perda de peso é decorrente dos procedimentos restritivos realizados, reduzindo a capacidade gástrica, e procedimentos malabsortivos os quais promovem a redução na área absorptiva do intestino delgado, ou a

associação de ambos (4,5). Pode-se afirmar que a maior parte das operações atualmente realizadas para o tratamento da obesidade possui algum componente disabsortivo (74).

A derivação jejuno-ileal é um procedimento cirúrgico disabsortivo e já foi empregada e avaliada em humanos (75). Embora acarrete significativa perda de peso, causa várias complicações, tais como: diarreia, distúrbios hepáticos e malabsorção de nutrientes (6). Entretanto, atualmente não é uma operação utilizada isoladamente no tratamento de obesos mórbidos, servindo apenas como modelo a estudos experimentais visando à avaliação das modificações metabólicas e histopatológicas intestinais decorrentes da derivação de todo o conteúdo gastroduodenal ao íleo terminal.

Alguns autores já utilizaram o rato como modelo animal para esse procedimento (60,76). Estudaram as neoplasias resultantes dos efeitos de várias operações realizadas no intestino delgado de ratos (secção, ressecção ou derivações) induzidas com o carcinógeno 1,2-dimetilhidrazina (um precursor do azoximetano) durante 6 semanas. Após este tempo os animais foram sacrificados e registrados a distribuição, tamanho e incidência de tumores no intestino delgado e grosso. O intestino grosso dos animais submetidos à redução da área absortiva apresentaram mais tumores (82%) que o grupo controle (56% em média).

Como conseqüência dos procedimentos restritivo-disabsortivos podem ocorrer também deficiências de microelementos, vitaminas e anemia ferropriva (5),

e segundo Alves *et al.* (7) indicam ser mais significantes após procedimentos disabsortivos.

A polidextrose é um prebiótico, no qual é fermentada parcialmente no intestino grosso, aumentando o volume de massa fecal, reduzindo o tempo de trânsito intestinal, suavizando e diminuindo o pH do bolo fecal. Essa fermentação conduz ao crescimento de microflora favorável, redução da microflora putrefativa, maior produção de ácidos graxos de cadeia curta e a supressão da produção de metabólitos carcinogênicos (por exemplo, o indol e o *p-cresol*) (13). Probert *et al.* (14) em estudo “*in vitro*” demonstraram que a ingestão de polidextrose aumentou a produção de bifidobactérias nos três estágios do cólon (cólon proximal, transverso e região final) e manteve uma variedade diversa de diferentes bifidobactérias. Além disso, diminuiu os níveis de bactérias patogênicas no cólon proximal, o que demonstrou o efeito prebiótico da polidextrose por toda a extensão do cólon.

A polidextrose tem sido o alvo de muitos estudos, devido a sua versatilidade e multifuncionabilidade, além de ser um excelente ingrediente para a indústria alimentícia.

De acordo com Jie *et al.* (13) e Craig *et al.* (50) a polidextrose apresenta baixa digestibilidade capaz de produzir efeitos fisiológicos similares aos de fibras alimentares solúveis. A polidextrose é dificilmente digerida no intestino delgado após administração oral, com aproximadamente 60% dela sendo excretada nas

fezes e 30% fermentada no intestino grosso pela microflora intestinal produzindo ácidos graxos voláteis e CO₂ (54).

Em estudo com humanos (13), os indivíduos que receberam polidextrose apresentaram maior frequência e facilidade nas evacuações, devido ao aumento do peristaltismo intestinal ocasionado pela excelente capacidade de retenção hídrica da polidextrose, aumento do peso úmido das fezes, o que a torna pastosa e de fácil eliminação, redução no pH fecal devido à produção de ácidos graxos de cadeia curta, crescimento das células epiteliais cecais normais e nenhuma evidência de efeitos laxativos com ingestão de 90 gramas por dia. Além disso, inibiu a absorção excessiva de glicose no intestino delgado e a fermentação no intestino grosso produziu ácidos graxos de cadeia curta favorecendo a redução do pH do intestino. O estudo aponta que o baixo pH intestinal e o aumento das evacuações podem impedir a produção de toxinas entéricas, prevenir a constipação, diverticulose e risco de câncer de cólon. Os autores concluíram que a ingestão diária de 4-12g de polidextrose melhora a função fisiológica sem produzir efeitos adversos (13).

Em estudos com animais, a ingestão de polidextrose (5g/100g de dieta) incrementou a concentração de cálcio nos ossos de ratas normais (51), aumentou a absorção aparente de cálcio (57), o que pode ser relevante para diminuir o risco de osteoporose. A suplementação de polidextrose também proporcionou aumento significativo na absorção aparente de ferro, hematócrito, hemoglobina e ferro sérico em animais (15).

Assim, é possível identificar componentes e/ou ingredientes funcionais dos alimentos que podem influenciar positivamente a absorção de minerais, assegurando uma melhor biodisponibilidade, além, do possível efeito protetor na mucosa do intestino.

Diante deste contexto, sabe-se que após o procedimento cirúrgico de derivação jejuno-ileal os pacientes apresentam deficiência na absorção de ferro e quantidade maior de ácidos biliares e outros nutrientes no intestino grosso. Visto que, recentes estudos têm encontrado uma ligação entre a ingestão de polidextrose e aumento da absorção de minerais, além do efeito protetor na mucosa do intestino. Tendo em vista a gama de propriedades para os ingredientes funcionais, é que sobreveio o objetivo desta pesquisa com o objetivo de estudar o efeito da suplementação de polidextrose no metabolismo de ferro e nas possíveis alterações morfológicas da mucosa do intestino em ratos após um período de (90) dias da derivação jejuno-ileal.

O animal escolhido para este estudo foi o rato, devido às suas características biológicas e seu metabolismo aumentado em relação ao homem. O tempo de acompanhamento é fundamental para estudar anemia e as alterações celulares. Esta pesquisa foi desenvolvida com ratos Wistar, durante 90 dias (12,8 semanas). Donaldson (77) e Peckham (78) afirmaram existir uma correspondência de 30 dias de vida do homem para cada dia de vida do rato, deste modo, neste estudo, uma observação de 90 dias corresponderia a 2700 dias (7,3 anos) de seguimento do ser humano. Outros autores como Gittes (79); Klee *et al.* (80);

landoli Jr (81) realizaram trabalhos experimentais em ratos também considerando como verdadeira esta correlação. Lambert (82) chama a atenção desta e de outras características que fazem do rato um bom modelo experimental para estudos em cirurgia do aparelho digestório.

Foi observado que os animais não operados (sham e controle) apresentaram-se com maior ganho de peso e pode-se afirmar que existem diferenças significantes no peso inicial e entre o peso final e inicial dos grupos estudados ($p < 0,0001$).

Na revisão de literatura, TEIXEIRA *et al.* (3) após estudo de 10 semanas em ratos Wistar com derivação jejuno-ileal observaram em sua avaliação ponderal que os animais apresentaram redução significativa do peso na primeira semana, o qual foi recuperado a partir do 14 dia e mantido até o final do estudo.

Em nosso estudo com 12,8 semanas também com ratos Wistar foi observado que, o ganho de peso se manteve constante em todos os grupos, porém, pode-se afirmar que os grupos operados (G3, G4, G5 e G6) apresentaram menor ganho de peso comparado aos grupos controles (C1 e C2), e que o ganho de peso manteve-se menor nos grupos operados durante os 90 dias de experimento, o que pode ser observado na Tabela 6 e Figura 12.

Esse menor ganho de peso dos ratos operados pode ser associado ao menor consumo de dieta (Tabela 10). Neste estudo foi avaliada somente a ingestão de dieta nas gaiolas metabólicas para o cálculo da absorção aparente de ferro, porém, é possível observar que os animais operados tiveram menor consumo de dieta. Sabe-se que após o procedimento de derivação jejuno-ileal a absorção de nutrientes fica prejudicada, o que pode promover o retardo do crescimento nos animais operados.

No sentido de aumentar a sensibilidade e a especificidade do diagnóstico do estado nutricional de ferro, têm-se utilizado combinações dos diferentes parâmetros disponíveis, considerando-se a contribuição de cada um, as facilidades metodológicas e o custo do processo (41).

Quando o sangue é coletado com anticoagulante adequado e centrifugado, há separação em duas camadas: uma plasmática e outra celular. O volume celular expresso em porcentagem do sangue total é denominado volume globular ou, mais freqüentemente, pelo nome do aparelho utilizado para a determinação “hematócrito” (83).

O estágio final da carência de ferro está associado a um significativo decréscimo na concentração de hemoglobina. Esse é, portanto, o parâmetro universalmente utilizado para definir anemia. Pode-se observar que a hemoglobina fornece informações similares à concentração de hematócrito, podendo ser utilizado conjuntamente no diagnóstico de anemia (41).

O volume corpuscular médio (VCM) é um índice hematimétrico comumente utilizado que avalia o tamanho médio do eritrócito, expresso em fentolitros e quando baixo indica microcitose (hemácia pequena). A hemoglobina corpuscular média (HCM) é comumente utilizada para avaliar a concentração de hemoglobina no eritrócito e quando o valor é baixo indica hipocromia (pouca hemoglobina dentro da hemácia) (41).

Quando as reservas de ferro estão exauridas, qualquer declínio adicional no ferro corporal é acompanhado por uma redução na concentração do ferro sérico (41).

As dosagens séricas de UIBC, TIBC, ferritina e IST não apresentaram diferença estatística ($p > 0,05$) entre os grupos experimentais, como pode ser observado na Tabela 7.

No hemograma foi observado na dosagem de hemoglobina diferença estatisticamente significativa ($p = 0,0432$) para a hemoglobina entre os grupos no momento (90 dias), e ($p = 0,0147$) para a variável tempo, sendo os grupos C1, C2 e G5 maior no tempo (90 dias) e o grupo G4 menor no tempo (90 dias). Em relação ao hematócrito foram detectados diferença estatisticamente significativa ($p = 0,0045$) para o hematócrito no momento (45 dias) e (90 dias), e para a variável tempo, não foram encontradas diferença estatisticamente significativa ($p = 0,5325$). Para o VCM, em relação aos grupos foram detectados diferença estatisticamente significativa ($p = 0,0347$) no momento (90 dias), e para a variável tempo, não foram

encontradas diferença estatisticamente significativa ($p=0,0784$). No HCM não foram detectados diferença estatisticamente significativa ($p=0,6724$) em relação aos grupos. Para a variável tempo foram encontradas diferença significativa ($p=0,0161$), sendo o grupo C1 maior no tempo (90 dias).

As análises de HCT e HGB no grupo G3 que ingeriu somente polidextrose não diferiram significativamente do grupo controle. Além disso, a análise de absorção aparente de ferro no mesmo grupo também não diferiu significativamente nos demais grupos operados (G3, G4 e G6). Portanto, nossa interpretação para esse fato, foi que a ingestão de polidextrose nos animais operados preveniu a anemia.

Na literatura, foram constatados em porcos submetidos a ressecção gástrica seguido de anastomose gastrojejunal em Y de Roux, valores estatisticamente menores de VCM comparados ao controle, como também para a hematócrito, hemoglobina e ferro sérico (84).

Ao analisar estes parâmetros hematológicos, que são os índices que melhor refletem as alterações em relação ao ferro a partir de dosagens séricas e do hemograma, foi possível observar que ratos Wistar após 90 dias da cirurgia de derivação jejuno-ileal não apresentaram queda significativa nesses parâmetros. De acordo com esses resultados pode-se observar que a derivação jejuno-ileal em 90 dias de estudo não afetou intensamente o metabolismo de ferro, sugerindo que esse período de estudo (90 dias) talvez não seja suficiente para induzir a depleção

de ferro. Isso também pode ser devido ao fato que a anastomose foi realizada com o jejuno/íleo, ficando o duodeno (principal sítio de absorção de ferro) no trânsito intestinal.

Na análise estatística foi observado que na absorção aparente também não houve diferença estatística ($p=0,1550$) entre os grupos experimentais. Isso também pode ser devido o duodeno (principal sítio de absorção de ferro) ter permanecido no trânsito intestinal. Sabe-se que a absorção do ferro ocorre em todas as porções do intestino delgado; predominantemente no duodeno e parte proximal do jejuno (34).

Em relação às análises no fígado foram detectadas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos. A principal diferença estatística quanto ao peso do fígado ficou no grupo C1 ($p=0,0007$), o qual apresentou maior peso, não ocorrendo diferença dos grupos C2 e G6. Por outro lado, os grupos G3, G4 e G5 não diferiram estatisticamente dos grupos C2 e G6.

Foi observado em relação à concentração média de ferro no fígado diferença estatisticamente significante ($p<0,0001$). O grupo G4 foi o que apresentou maior concentração, sendo que esse grupo de animais recebeu a dieta formulada com ferro e com povidexrose. O grupo que apresentou menor valor foi o grupo G5 (dieta apenas com povidexrose). Não conseguimos interpretar e justificar essas alterações, sendo nossa observação que a ingestão associada de ferro + povidexrose pode favorecer a deposição de ferro no fígado.

O exame histopatológico do fígado revelou achados inesperados, mostrou fígados histologicamente normais e diversos graus de esteatose hepática. Fazendo uma análise descritiva da frequência de esteatose hepática nos grupos experimentais foi observado que dos 59 animais em experimentação, 22 (37%) não apresentaram esteatose, 20 (34%) apresentaram grau 1 (leve), 6 (10%) apresentaram grau 2 (moderada) e 11 (19%) dos animais apresentaram esteatose grau 3 (intensa). A análise estatística foi realizada considerando apenas presença ou não de esteatose, sendo verificado diferença estatisticamente significativa ($p < 0,0001$) para a presença ou não de esteatose hepática entre os grupos experimentais. Dos 59 animais deste estudo, 37 (62,7%) apresentaram algum grau de esteatose hepática (Grau 1, 2 ou 3), onde 47 representam o grupo operado (G3, G4, G5 e G6), e dentre estes, 36 animais (76,6%) apresentaram esteatose. Já no grupo controle apenas 1 animal (8,3%) apresentou esteatose. Analisando os 22 animais sem esteatose, 11 animais eram do grupo controle (C1 e C2) e 11 animais dos grupos operados (G3, G4, G5 e G6).

Pode-se inferir do exposto que o procedimento cirúrgico de derivação jejuno-ileal tem impacto relevante na ocorrência de esteatose hepática em ratos, uma vez que, a incidência de esteatose foi aproximadamente 10 vezes maior nos animais submetidos ao procedimento cirúrgico (8,3% controle e 76,6% operados). Embora esta cirurgia tenha sido descrita há muitos anos, não encontramos na literatura consultada nenhuma publicação de trabalhos experimentais empregando esta cirurgia como uso de modelo experimental para induzir esteatose hepática.

Portanto, tendo como base os resultados desta pesquisa, de fato, o procedimento cirúrgico de derivação jejuno-ileal não deve ser utilizada de forma isolada para o tratamento clínico da obesidade, visto a alta incidência de esteatose hepática encontrada.

Couto (85), em estudo experimental com duração de 30 dias com ratas Wistar, alimentadas com dois tipos de dietas: AIN-93G e Labina®, mostrou no exame histopatológico fígados normais nos animais do grupo Labina. No entanto, animais alimentados com AIN-93 apresentaram diversos graus de esteatose hepática. Dos seis animais do grupo (AIN), dois (33,3%) apresentaram esteatose intensa, um (16,7%) apresentou esteatose moderada, dois (33,3%) grau leve e apenas um (16,7%) mostrou o fígado histologicamente normal. A autora menciona que o aparecimento de esteatose hepática em roedores de experimento pode ter várias causas associadas de dietas.

Portanto, foi observado no estudo de Couto (85) que 83% dos animais que receberam a dieta AIN93 apresentaram algum grau de esteatose hepática (leve, moderada, intensa), entretanto, na presente pesquisa os animais do grupo controle que receberam a dieta AIN-M (Grupo C1) não apresentaram esteatose hepática. No entanto, foi observada esteatose grau leve em 1 animal (16,7%) do grupo controle (C2), onde todos os animais receberam dieta comercial (Nuvital).

Vale ressaltar portanto que os dados obtidos nesta pesquisa apontam que o procedimento cirúrgico de derivação jejuno-ileal isolado seja um modelo para

estudos de esteatose hepática. É importante mencionar que existem estudos indicando que a deficiência de colina na dieta induz ao fígado gorduroso (86) e que este achado estaria associado à deficiência simultânea de folato, colina e metionina (87,88). Tomando como fundamento as informações mencionadas e sabendo-se que a derivação jejuno-ileal é um procedimento cirúrgico disabsortivo, pode-se aventar a hipótese de prejuízo na absorção de fatores lipotrópicos responsáveis pelo metabolismo de gordura no fígado.

Em estudo experimental com dieta hipoprotéica comparada a dietas suplementadas em metionina e cisteína o acúmulo de gordura hepática não demonstrou estar ligado a esses aminoácidos e sim a um controle endócrino, gerando maior produção hepática de gorduras e menor utilização destas com conseqüente acúmulo hepático (89). Cuppari (90) explicita que o efeito negativo da perda de peso observada em alguns pacientes provavelmente é ocasionado pelo aumento da concentração de ácidos graxos circulantes. Esse aumento se deve à rápida mobilização dos triglicerídeos armazenados no tecido adiposo, associada à grande exposição do fígado aos ácidos graxos livres.

Na última década, estudos mostram que a deficiência de colina na dieta induz ao fígado gorduroso (85) e que esta ocorrência estaria associada à deficiência simultânea de folato, colina e metionina (86,87). Em humanos, sabe-se que na falta do folato, a homocisteína não sofre metilação para se converter em metionina, o que faz a concentração desta diminuir. E a diminuição da

concentração de metionina é um fator que predispõe ao desenvolvimento da aterosclerose (91).

Não se conhecem ainda as repercussões do uso da AIN-93 durante períodos mais longos, na sobrevivência, manutenção do peso, processos patológicos advindos com a idade. Portanto, outras pesquisas devem ser realizadas incluindo estudos histopatológicos e fisiológicos adicionais com o interesse de completar o processo de avaliação dessa dieta (92). Recomenda-se, portanto, a condução de estudos por um período mais longo a fim de se avaliar comparativamente os efeitos decorrentes do consumo em longo prazo.

Este estudo experimental também teve por objetivo analisar as alterações histopatológicas no intestino após a derivação jejuno-ileal, e estudar a influência da suplementação de polidextrose. Foi observado que os animais não apresentaram alterações no aspecto histológico em nenhum segmento estudado (S1, S2, S3, S4 e S5). Todos os segmentos estudados mostraram preservação das estruturas.

Portanto, os resultados da presente pesquisa permitem concluir que ratos Wistar após 90 dias da cirurgia de derivação jejuno-ileal não apresentaram alteração na mucosa intestinal. Este resultado sugere outra pergunta: a polidextrose pode ter agido como protetora da mucosa intestinal? Nesta linha de raciocínio, Murphy (52) relatou que as ligações aleatórias da polidextrose impedem que as enzimas digestivas hidrolisem a molécula, sendo então

difícilmente digerida no intestino delgado. Probert *et al.* (14) constataram “in vitro” que a polidextrose apresenta efeito prebiótico por toda a extensão do cólon; e dentre as 5 porções analisadas neste estudo, 4 foram segmentos do cólon.

Na revisão de literatura, os resultados desta pesquisa corroboram com os resultados encontrados por Teixeira *et al.* (3) após estudo morfométrico da mucosa do intestinal de ratos Wistar, sacrificados 10 semanas após a derivação observaram que o volume das criptas dos três segmentos colônicos do ceco, colon direito e colon esquerdo não diferiu significativamente entre os grupos.

Outros estudos experimentais bem conduzidos, Chaib *et al.* (93); Bristol *et al.* (59); Tamames *et al.* (94) já evidenciaram hipertrofia das vilosidades e da mucosa das alças em circuito ativo e atrofia das alças exclusas nas quais se observa proliferação bacteriana acentuada.

Tamames *et al.* (94) através do estudo da reação compensatória do colon ascendente após a derivação jejuno-ileal em 115 ratas Wistar observaram, desde os primeiros dias, um pequeno aumento da parede intestinal desde os primeiros dias do intestino grosso em relação ao intestino delgado, um aumento significativo da parede muscular e da mucosa.

Resck (95), enfatiza que a cirurgia bariátrica é um método eficaz no tratamento da obesidade mórbida e controle de peso em longo prazo. As cirurgias antiobesidade podem ser procedimentos que limitam a capacidade gástrica, ou

que interferem na digestão ou, ainda, uma combinação de ambas as técnicas. A questão que deve ser analisada pelos cirurgiões que estão realizando estes procedimentos, é que as anastomoses jejuno-jejunais ou jejuno-ileais, associadas ou não à gastroplastias, estão cada vez mais distantes do estômago, no sentido de diminuir a absorção alimentar. Este fato obrigatoriamente faz com que tanto alimentos não digeridos na sua totalidade, como a própria secreção biliopancreática atinjam mais rapidamente o intestino grosso, o qual, por sua vez certamente sofrerá agressões na sua mucosa por conservantes, ácidos biliares e inúmeros medicamentos (95). Adami *et al.* (96) através do estudo da derivação biliopancreática (BPD) alerta para o aumento do risco de câncer colorretal causado através da possível ação carcinogênica dos alimentos mal-absorvidos e ácidos biliares na mucosa colônica.

Tendo em vista os motivos acima discutidos, esta mesma pesquisa também menciona que muitas pesquisas clínicas e experimentais têm sido realizadas com o objetivo de associar as cirurgias bariátricas à ocorrência de carcinogênese dos segmentos anteriores e posteriores às cirurgias (95). Apesar disso, no futuro torna-se ainda necessário a realização de muitas pesquisas clínicas e experimentais para elucidação dos fatores aceleradores e inibidores das possíveis complicações cirúrgicas tardias. E com as mudanças ambientais e alimentares torna-se cada vez mais necessário o estudo das possíveis alterações fisiológicas, morfológicas e a evolução das novas propostas cirúrgicas.

Embora tenha sido escrita há muitos anos, não encontramos na literatura consultada nenhuma publicação de trabalhos experimentais empregando esta cirurgia com o uso da suplementação de povidexose com análise morfológica da mucosa intestinal.

Portanto, os resultados da presente pesquisa permitem concluir que a suplementação de povidexose na concentração 7,5% não teve efeito na absorção de ferro. Também não foi observada alteração na mucosa intestinal após o período de estudo. No entanto, foi observada alteração nos parâmetros de ferro sérico e hematológicos após 90 dias da cirurgia de derivação jejuno-ileal e ocorrência de esteatose hepática.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

De fato, a derivação jejuno-ileal isolada não deve ser empregada para o tratamento da obesidade, visto a alta incidência de esteatose hepática encontrada neste estudo. Este modelo cirúrgico de derivação jejuno-ileal necessita ainda ser mais explorado como modelo experimental. Portanto, este modelo experimental pode ser utilizado em futuros estudos dessa doença com melhor eficiência aos modelos atualmente utilizados.

Certamente também são necessários mais estudos com as dietas para animais de laboratório, pois, podem ser necessários ajustes para obtenção de resultados mais confiáveis. Não se conhece ainda as repercussões do uso da AIN-93 durante períodos mais prolongados, na sobrevida, manutenção do peso e processos patológicos. Devem ser realizados também estudos histopatológicos e fisiológicos adicionais de outros órgãos no interesse de completar o processo de avaliação dessa dieta.

Finalmente, vale ainda ressaltar a importância da realização de mais pesquisas com o prebiótico polidextrose e sua função protetora no intestino, na tentativa de esclarecer os seus efeitos na prevenção e redução de criptas anormais no intestino, especialmente na região retal, prevenindo a ocorrência de neoplasias, como anteriormente relatado por outros autores.

8 CONCLUSÕES

A análise final desta pesquisa permite concluir que:

1. A suplementação de polidextrose na concentração 7,5% não aumentou a absorção aparente de ferro.
2. As dosagens de ferro sérico nos grupos operados (G3, G4, G5 e G6) com ou sem suplementação de polidextrose não diferiram dos grupos controles.
3. As dosagens de UIBC, TIBC, IST e ferritina não foram modificadas com a suplementação de polidextrose.
4. A suplementação de polidextrose não modificou as dosagens de hematócrito, hemoglobina, VCM e HCM.
5. As dosagens de ferro no fígado foram mais elevadas, respectivamente, nos grupos que receberam ferro (G3) e ferro associado a polidextrose (G4).
6. Não foram observadas alterações histológicas na mucosa intestinal dos segmentos estudados no período de 90 dias.

7. As alterações histológicas encontradas no fígado dos animais estudados foram caracterizadas como esteatose.

8. A presença de esteatose foi mais acentuada nos animais submetidos à derivação jejuno-ileal, sendo que, a suplementação de polidextrose não contribuiu para diminuir a sua ocorrência.

9 REFERÊNCIAS

1. Segal A, Fandiño J. Indicações e contra-indicações para realização das operações bariátricas. *Rev Bras Psiquiatr.* 2002; 24(Supl.III): 68-72.
2. Fandiño J, Benchimol AK, Coutinho WF, Appolinário JC. Cirurgia bariátrica: aspectos clínico-cirúrgicos e psiquiátricos. *R Psiquiatr. RS.* 2004; 26(1):47- 51.
3. Teixeira HM, Ribas-Filho JM, Nassif PAN, Dietz UA, Henriques GS, Aoki S, Pizzol FD. Avaliação morfométrica da mucosa do intestino grosso após derivação jejunoileal em ratos. *Arq Bras Cir Dig.* 2006; 19(4):140-145.
4. Francischi RPP, Pereira LO, Freitas CS, Klopfer M, Santos RC, Vieira P, Júnior AHL. Obesidade: atualização sobre sua etiologia, morbidade e tratamento. *Rev Nutr.* 2000; 13(1): 17-28.
5. Diniz MFHS, Diniz MTC. Obesidade mórbida. In: Fonseca JGM. Obesidade e outros distúrbios alimentares. Rio de Janeiro: Médica e Científica. Parte C, v.2, 2001.
6. Hocking MP, Davis GL, Franzini DA, Woodward ER. Long-term consequences after jejunoileal bypass for morbid obesity. *Dig Dis Sci.* 1998; 43(11): 2493-2499.
7. Alves LFA, Gonçalves RM, Cordeiro GV, Lauria MW, Ramos AV. Beribéri pós bypass gástrico: uma complicação não tão rara. Relato de dois casos e revisão da literatura. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2006; 50(3): 564-568.
8. Campos MS, Gómez-Ayala AE, López-Aliaga I, Pallarés I, Hartiti S, Pharm B, Alférez MJM, Barrionuevo M. Role of the proximal colon in mineral absorption in rats with and without ferropenic anemia. *Nutr Res.* 1996; 16(9): 1529-1543.

9. Ebihara K, Okano J, Miyata T. Comparison of ferrous and ferric iron bioavailability following rat cecal infusion. *Nutr Res.* 1994; 14(2): 221-228.
10. Bouglé D, Vaghefi-Vaezzadeh N, Roland N, Bouvard G, Arhan P, Bureau F, Neuville D, Maubois JL. Influence of short-chain fatty acids on iron absorption by proximal colon. *Scand J Gastroenterol.* 2002; 37(9): 1008-1011.
11. Rivero-Urgell M, Santamaria-Orleans A. Oligosaccharides: application in infant food. *Early Hum Dev.* 2001; 65(Suppl.):S43-S52.
12. Crittenden RG, Playne MJ. Production, properties and applications of food-grade oligosaccharides. *Trends Food Sci Technol.* 1996; 7(11): 353-361.
13. Jie Z, Bang-Yao L, Ming-Jie X, Hai-Wei L, Zu-Kang Z, Ting-Song W, Craig SA. Study on the effects of polydextrose intake on physiologic functions in Chinese. *Am J Clin Nutr.* 2000; 72: 1503-1509.
14. Probert HM, Apajalahti JHA, Rautonen N, Stowell J, Gibson GR. Polydextrose, lactitol, and fructo-oligosaccharide fermentation by colonic bacteria in a three-stage continuous culture system. *Appl Environ Microbiol.* 2004; 70(8): 4505-4511.
15. Santos EF, Tsuboi KH, Araújo MR, Falconi MA, Ouwehand AC, Andreollo NA, Miyasaka CK. Ingestion of polydextrose increase the iron absorption in rats submitted to partial gastrectomy. *Acta Cir Bras.* 2010; 25:518-524.
16. Ohta A, Ohtsuki M, Uehara M, Hosono A, Hirayama M, Adachi T, Hara H. Dietary fructooligosaccharides prevent postgastrectomy anemia and osteopenia in rats. *J Nutr.* 1998; 128(3): 485-490.

17. Organização Mundial da saúde (OMS). Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/> Acesso em 05 de outubro de 2007.
18. Oliveira VM, Linardi RC, Azevedo AP. Cirurgia bariátrica: aspectos psicológicos e psiquiátricos. Rev Psiquiatr Clín. 2004; 31(4): 199-201.
19. Dualib PM, Dib AS, Da Costa CP, Coutinho WF. Como diagnosticar e tratar obesidade. Rev Bras Med. 2008; 65: 26-31.
20. Committee on Diet and Health, National Research Council. Diet and Health: implications for reducing chronic disease risk. Washington, DC National Academic Press. 1989:564.
21. Björntorp P. Definition and classification of obesity. In: Fairbairn & Brownell (eds) Eating disorders and obesity. 2 ed, New York. 2003.
22. Pories WJ, Joseph EB. Surgery for obesity: procedures and weight loss. In: Fairbairn & Brownell (eds) Eating disorders and obesity. 2 ed., New York. 2003.
23. Yoshie-Stark Y, Wasche A. In vitro binding of bile acids by lupin protein isolates and their hydrolysates. Food Chem. 2004; 88(2): 179-184.
24. Kahlon TS, Chapman MH, Smith GE. In vitro binding of bile acids by okra, beets, asparagus, eggplant, turnips, green beans, carrots, and cauliflower. Food Chem. 2007; 103(3): 676-680.
25. Kahlon TS, Chapman MH, Smith GE. In vitro binding of bile acids by spinach, kale, brussels sprouts, broccoli, mustard greens, green bell pepper, cabbage and collards. Food Chem. 2007; 100(4): 1531-1536.

26. Miller DD. Minerals. In: Fennema OR. Food Chemistry. 3 ed. New York: Marcel Dekker, 1996.
27. Carpenter CE, Mahoney AW. Contributions of heme and nonheme iron to human nutrition. Crit Rev Food Sci Nutr. 1992; 31(4): 333-367.
28. Fairbanks VF. O Ferro em medicina e nutrição. In: Shils ME, Olson JÁ, Shike M, Ross AC. Tratado de nutrição moderna na saúde e na doença. Barueri: Manole; 2003.
29. Sharp PA, Tandy SR, Srai SK. Mechanisms involved in the regulation of intestinal iron absorption. Nutr Abstr Rev. 2003; 73(3): 1R-9R.
30. Latunde-Dada GO, Dutra De Oliveira JD, Carilho SV, Marchini JS, Bianchi MLP. Gastrointestinal tract and iron absorption: a review. Alim Nutr. 1998; 9: 103-125.
31. Barrios MO, Gómez HGD, Delgado NE. Metabolismo del hierro. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter. 2000; 16(3): 149-60.
32. Boccio J, Salgueiro J, Lysionek A, Zubillaga M, Goldman C, Weill R, Caro R. Metabolismo del hierro: conceptos actuales sobre um micronutriente esencial. Arch Latinoam Nutr. 2003; 53(2): 119-132.
33. Benito P, Miller D. Iron absorption and bioavailability: an updated review. Nutr Res. 1998; 18(3) 581-603.
34. Guyton AC, Hall JE. Tratado de fisiologia médica. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002.

35. De Angelis RC, Ctenas MLB. Biodisponibilidade de ferro na alimentação infantil. Nestlé – Serviço de Informação Científica. Temas de Pediatria; 1993.
36. Bianchi MLP, Silva HC, Dutra De Oliveira JE. Considerações sobre a biodisponibilidade do ferro dos alimentos. Arch Latinoam Nutr. 1992; 42(2): 94-100.
37. Schultink W, Gross R. Iron deficiency alleviation in developing countries. Nutr Res Rev. 1996; 9(1): 281-293.
38. Weaver CM, Heaney RP. Cálcio. In: Shils ME, Olson JA, Shike M, Ross AC. Tratado de nutrição moderna na saúde e na doença. Barueri: Manole; 2003.
39. Brunken GS, Szarfarc SC. Anemia ferropriva em pré-escolares: conseqüências, formas de controle e histórico das políticas nacionais de redução da deficiência. Cad Nutr. 1999; 17(1): 1-19.
40. Organização Mundial da Saúde - Anemias Nutricionais: Informe de um grupo científico, Genebra, OMS, 1968, (Série de Informes Técnicos, 405).
41. Paiva AA, Rondó PHC, Guerra-Shinohara EM. Parâmetros para avaliação do estado nutricional de ferro. Rev Saude Publica. 2000; 34(4): 421-426.
42. Stoltzfus RJ. Summary: implications for research and programs. J Nutr. 2001; 131 (Suppl.): 697S-701S.
43. Worwood M. The laboratory assessment of iron status – an up date. Clin Chem Acta. 1997; 18(259): 3-23.

44. Cook JD, Finch CA. Assessing iron status of a population. *Am J Clin Nutr.* 1979; 32: 2115-2119.
45. Haas JD, Brownlie T. Iron deficiency and reduced pork capacity: a critical review of the research to determine a causal relationship. *J Nutr.* 2001; 131(Suppl.): 676S-690S.
46. Arai S. Physiological functions of foods. Proceedings of the 6th International Congress on Engineering and Food, Chiba, Japan, 1993, p.48-53.
47. Sgarbieri VC, Pacheco MTB. Alimentos funcionais fisiológicos. *Braz J Food Technol.* 1999; 2(1-2): 7-19.
48. Zubillaga M, Weill R, Postare E, Goldman C, Caro R, Boccio J. Effects of probiotics and functional foods and their use in different diseases. *Nutr Res.* 2001; 21(3): 569-579.
49. Manning TS, Gibson GR. Prebiotics. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2004; 18(2): 287-298.
50. Craig SAS, Holden JF, Troup JP, Auerbach MH, Frier HI. Polydextrose as soluble fiber: physiological and analytical aspects. *Cereal Chem.* 1998; 43(5): 84-88.
51. Hara H, Suzuki T, Aoyama Y. The intake of soluble dietary fiber, polydextrose, increases calcium absorption and bone mineralization em normal rats and gastrectomized. *Br J Nutr.* 2000; 84: 655-661.
52. Murphy O. Non-polyol low-digestible carbohydrates: food applications and functional benefits. *Br J Nutr.* 2001; 85(Suppl.1): S47-S53.

53. Esteller MS. Fabricação de pães com reduzido teor calórico e modificações reológicas ocorridas durante o armazenamento [Dissertação]. São Paulo (SP): Universidade de São Paulo; 2004 .
54. Yoshioka M, Shimomura Y, Suzuki M. Dietary polidextrose affects the large intestine in rats. *J Nutr.* 1994; 124(4): 539-547.
55. Ishizuka S, Nagai T, Hara H. Reduction of aberrant crypt foci by ingestion of polydextrose in the rat colerectum. *Nutr Res.* 2003; 23:117-122.
56. Choe M, Kim JD, JU JS. Effects of polydextrose and hydrolysed guar gum on lipid metabolism of normal rats with different levels of dietary fat. *Nutr Korea.* 1992; 25(3): 211-220.
57. Santos EF, Tsuboi KH, Araújo MR, Ouwehand AC, Andreollo NA, Miyasaka CK. Dietary polydextrose increases calcium absorption in normal rats. *ABCD Arq Bras Cir Dig.* 2009;22(4):201-205.
58. Waynforth HB. *Experimental and surgical technique in the rat.* London: Academic Press; 1980.
59. Bristol JB, Wells M, Williamson RCN. Adaptation to jejunoileal bypass promotes experimental colorectal carcinogenesis. *Br J Surg.* 1984;71(2):123-6.
60. Reeves PG. Components of the AIN-93 diets as improvements in the AIN-76Adiet. *J Nutr.* 1997; 127: 838-841.
61. Reeves PG, Nielson FH, Fahey Jr GC. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr.* 1993; 123(11): 1939-1951.

62. Ohta A, Sakai K, Takasaki M, Uehara M, Tokunaga T, Adachi T. Dietary heme iron does not prevent postgastrectomy anemia but fructooligosaccharides improve bioavailability of heme iron in rats. *Int J Vitam Nutr Res.* 1999; 69(5): 348-355.
63. AOAC – Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis*, 15th ed, Washington D.C; 1990.
64. Bligh EC, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol.* 1959; 37(7): 911-917.
65. Ohta A, Ohtsuki M, Baba S, Takizawa T, Adachi T, Kimura S. Effects of fructooligosaccharides on the absorption of iron, calcium and magnesium in iron-deficient anemic rats. *J Nutr Sci Vitaminol.* 1995; 41(3): 281-191.
66. Santos EF. Efeitos da suplementação de galactooligossacarídeo e polidextrose sobre a absorção de cálcio e ferro em ratos gastrectomizados [Dissertação]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 2007.
67. Chonan O, Watanuki M. The effect of 6'-Galactooligosaccharides on bone mineralization of rats adapted to different levels of dietary calcium. *Int J Vitam Nutr Res.* 1996; 66(3): 244-249.
68. Shiga K, Hara H, Okano G, Aoyama Y. Ingestion of water-soluble soybean fiber prevents gastrectomy-induced iron malabsorption, anemia and impairment of voluntary running exercise performance in rats. *J Nutr.* 2003; 133(4): 1120-1126.
69. Santos HB, Madruga MS, Bion FM, Antunes NLM, Mendes K, Aguidá R. Estudos bioquímicos e hematológicos em ratos sobre biodisponibilidade de minerais numa dieta enriquecida com multimistura. *Ci Tecnol Aliment.* 2004; 24(4): 613-618.

70. Kleiner DE, Brunt EM, Natta MV, Behling C, Contos M, Cummings OW, Ferrel LD, Liu YC, Torbenson MS, Unalp-Arida A, Yeh M, McCullough AJ, Sanyal AJ. Design and Validation of a Histological Scoring System for Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Hepatology*. 2005; 41:1313-21.
71. SAS System for Windows (Statistical Analysis System), versão 9.1.3 Service Pack 3. SAS Institute Inc, 2002-2003, Cary, NC, USA.
72. World Health Organization. Report of a WHO Consultation on Obesity. Obesity, Preventing and Management the Global Epidemic. Geneva, 1997.
73. Póvoa LC. Custo da obesidade. In: Halpern A, Godoy Matos AF, Suplicy HL, Mancini MC, Zanella MT. Obesidade. São Paulo; Lemos editorial. 1998;401-6.
74. Buchwald H, Williams SE. Bariatric Surgery Worldwide 2003. *Obes Surg*. 2004;14:1157-64.
75. Sylvan A, Sjölund B, Janunger KG, Rutegard J, Steling R, Roos G. Colorectal cancer risk after jejunoileal bypass: dysplasia and DNA content in longtime follow up of patients operated on for morbid obesity. *Dis Colon Rectum*. 1992; 35(3):245-8.
76. Scudamore CH, Freeman HJ. Effects of small bowel transection, resection, or bypass in 1,2 dimetilhidrazine induced rat intestinal neoplasia. *Gastroenterol*. 1983; 84(4):725-31.
77. Donaldson HH. *The rat*. 2.ed. Philadelphia, 1924.
78. Peckham JC. Experimental oncology. In: Baker HJ, Lindsey JR, Weisbroth SH. *The laboratory rat*. New York: Academic Press, 1979.

79. Gittes RF. Carcinogenesis in ureterosigmoidostomy. *Urol Clin North Am.* 1986;2(13):201-205.
80. Klee LW, Hoover DM, Mitchell ME, Rink RC. Long term effects of gastrocystoplasty in rats. *Urol J.* 1990; 144(5):1283-87.
81. Iandoli JRD, Nigro AJT, Sementilli A, Juliano Y, Novo NF. Comparação das anastomoses esôfago-gástricas término-terminais em plano único e por invaginação de submucosa e mucosa em ratos. *Acta Cir Bras.* 2000; 15(1): 31-31.
82. Lambert R. *Surgery of the digestive system in the rat.* Illinois: Charles, C. Thomas Publisher, 1965.
83. Rapaport SI. *Introdução à Hematologia.* 2 ed., São Paulo: Roca, 1990.
84. Gandarillas M, Bas FM. *Actualización del metabolismo del hierro y sus consecuencias post-bypass gástrico en Y de Roux utilizando al cerdo como modelo.* [Dissertação]. Chile: Pontificia Universidad Católica de Chile; [s.d].
85. Couto JLA. *Evolução morfológica e funcional do fígado na coexistência de esquistossomose mansoni e desnutrição* [Tese]. Niterói (RJ): Universidade Federal Fluminense; 2005.
86. Grattagliano I, Vendemiale G, Caceni P, Domenicali M, Nardo B, Cavallari A, Trevisani F, Bernardi M, Altomare E. Starvation impairs antioxidant defense in fatty livers of rats fed a choline-deficient diet. *J Nutr.* 2000; 130: 2131-2136.
87. Esfandiari F, Green R, Cotterman RF, Pogribny IP, James SJ, Miller JW. Methyl deficiency causes reduction of methyl-CpG-binding protein, MeCP2, in rat liver. *Carcinog.* 2003; 24:1935-1949.

88. Starkel P, Sempoux C, Leclercq I, Herin M, Deby C, Desager JP, Horsmans Y. Oxidative stress, KLF6 and transforming growth factor- β up-regulation differentiate non-alcoholic steatohepatitis progressing to fibrosis from uncomplicated steatosis in rats. *J Hepatol.* 2003; 39: 538-546.
89. Osumi Y, Nagasaka Y, Shimamoto K. Lipid metabolism in the rats with fatty liver caused by low protein diet and effects of the oral administration of L-methionine, L-cysteine, pantethine and calcium pantothenate upon it. *Jpn J Pharmacol.* 1969; 19(1): 74-88.
90. Cuppari L. Guia de nutrição: nutrição clínica no adulto. 2. Ed. Barueri, SP: Manole; 2005.
91. Costa KA, Gaffney CEG, Fischer LM, Zeisel SH. Choline deficiency in mice and humans is associated with increased plasma homocysteine load. *Amer J Clin Nutr.* 2005; 81: 440-444.
92. Duffy PH, Lewis SM, Mayhugh MA, Mccracken A, Thorn BT, Reeves PG, Blakely SA, Casciano Da Feuers RJ. Effect of the AIN-93M purified diet and dietary restriction on survival in Sprague-Dawley rats: implications for chronic studies. *Amer Soc Nutr Scien.* 2002; 132: 101-109.
93. Chaib SA, Faria RM, Chaib E, Mion Jr D, Laudanna AA. Alterações Histopatológica nas alças ileais e jejunais de pacientes submetidos à operação de "by-pass" para tratamento da obesidade. *Rev Hosp Clin Fac Med.* 1983; 38(6):231-36.
94. Tamames Jr S, De Veja DS, Furio V, Tamames S. Reacción compensadora del colon ascendente tras el by-pass yeyuno-ileal. Estudio experimental. *Rev Esp Enf Digest.* 1990;78(1):14- 22.

95. Resck MCC. Estudo experimental das alterações do intestino grosso em ratos submetidos a operação de derivação jejunoileal. [Tese]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 2010.

96. Adami GF, Papadia FS, Marinari GM, Camerine GB, Scopinaro N. Does biliopancreatic diversion carry increased risk for colorectal cancer? A cohort study. *Obes. Surg.* 2008; 18(2):212 – 5.

10 ANEXOS E APÊNDICES

Anexo 1- Protocolo do Comitê de Ética de Experimentação Animal



CEEA/Unicamp

Comissão de Ética na Experimentação Animal
CEEA/Unicamp

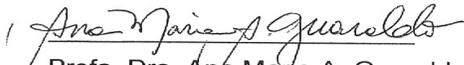
CERTIFICADO

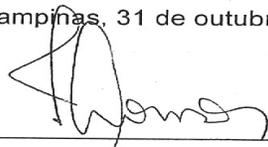
Certificamos que o Protocolo nº 1387-1, sobre "Estudo experimental e avaliação do efeito da suplementação de ferro e/ou polidextrose no metabolismo de ferro e na morfologia do intestino grosso em ratos submetidos à derivação jejunoileal", sob a responsabilidade de Prof. Dr. Nelson Adami Andreollo / Elisvânia Freitas dos Santos, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal – CEEA/Unicamp em 31 de outubro de 2007.

CERTIFICATE

We certify that the protocol nº 1387-1, entitled "Experimental study and evaluation of the effect of the supplementation of iron and/or polydextrose in the metabolism of iron and the morphology of the large intestine in rats submitted to the jejunoileal bypass", is in agreement with the Ethical Principles for Animal Research established by the Brazilian College for Animal Experimentation (COBEA). This project was approved by the institutional Committee for Ethics in Animal Research (State University of Campinas - Unicamp) on October 31, 2007.

Campinas, 31 de outubro de 2007.


Profa. Dra. Ana Maria A. Guaraldo
Presidente


Fátima Alonso
Secretária Executiva

CEEA/IB – Unicamp
Caixa Postal 6109
13083-970 Campinas, SP – Brasil

Telefone: (19) 3521-6359
Telefax: (19) 3521-6356
E-mail: comisib@unicamp.br
<http://www.ib.unicamp.br/institucional/ceea/index.htm>

Apêndice 1- Análise Estatística

Análise estatística

EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE POLIDEXTROSE EM RATOS SUBMETIDOS À DERIVAÇÃO JEJUNO-ILEAL

Objetivos

Descrever as variáveis do estudo.

Comparar a variável peso, no início do estudo, e a diferença de pesos entre o final e o início do estudo, entre os grupos.

Comparar a variável esteatose entre os grupos.

Comparar as medidas das variáveis ferro sérico, UIBC, TIBC, ferritina, porcentagem de IST, peso do fígado e quantidade de ferro no fígado entre grupos.

Comparar as medidas das variáveis hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio, hemoglobina corpuscular média, reticulócitos e absorção aparente de ferro entre grupos e tempos.

Metodologia Estatística

Análise descritiva com apresentação de tabelas de frequências para variáveis qualitativas e medidas de posição e dispersão para as variáveis quantitativas.

A comparação de variáveis quantitativas entre os grupos foi realizada através do teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis.

Para a verificação de associação entre duas variáveis qualitativas foi utilizado o teste exato de Fisher.

Para comparação das medidas, levando-se em consideração os momentos avaliados e os grupos (ou somente os grupos), foi utilizada a Análise de Variância (ANOVA) para medidas repetidas, seguida, quando necessário, por testes de comparações múltiplas. A transformação por postos foi aplicada às medidas devido à não-normalidade dos dados.

O nível de significância adotado para os testes estatísticos foi de 5%.

Resultados

Quadro 1 - Análise descritiva para a variável peso, por grupo, em três momentos, e para as diferenças entre o último e o primeiro momentos, por grupo

Grupo	N Obs	Variable	N	Mean	Std Dev	Minimum	Median	Maximum
1	6	Peso1	6	280.0000	14.0428	256.0000	281.0000	294.0000
		Peso2	6	405.3333	19.4902	376.0000	405.5000	432.0000
		Peso3	6	502.8333	28.7918	466.0000	502.0000	553.0000
		DifPeso	6	222.8333	19.9140	208.0000	214.5000	259.0000
		Porc_DifPeso	6	79.6287	6.3345	70.9898	79.5720	88.0952
2	6	Peso1	6	330.0000	12.5220	313.0000	333.5000	344.0000
		Peso2	6	422.6667	35.6969	389.0000	420.0000	484.0000
		Peso3	6	491.8333	44.0201	439.0000	501.5000	557.0000
		DifPeso	6	161.8333	32.6706	122.0000	164.0000	213.0000
		Porc_DifPeso	6	48.8243	8.3099	38.4858	48.5176	61.9186
3	12	Peso1	10	239.5000	21.6654	220.0000	233.5000	282.0000
		Peso2	10	273.3000	17.6008	244.0000	277.5000	299.0000
		Peso3	9	299.4444	40.7035	240.0000	293.0000	365.0000
		DifPeso	9	64.6667	49.7041	-4.0000	57.0000	144.0000
		Porc_DifPeso	9	28.5306	22.9068	-1.6393	24.5690	65.1584
4	12	Peso1	9	263.5556	24.2493	226.0000	271.0000	293.0000
		Peso2	9	289.7778	49.2158	210.0000	288.0000	361.0000
		Peso3	9	291.3333	62.8371	200.0000	264.0000	395.0000
		DifPeso	9	27.7778	47.2831	-26.0000	26.0000	102.0000
		Porc_DifPeso	9	9.8808	17.2134	-11.5044	8.9965	34.8123
5	11	Peso1	10	249.9000	11.8458	232.0000	248.0000	267.0000
		Peso2	10	277.9000	27.2986	244.0000	279.5000	330.0000
		Peso3	10	302.4000	32.0701	263.0000	303.5000	353.0000
		DifPeso	10	52.5000	27.9454	5.0000	59.0000	87.0000
		Porc_DifPeso	10	20.9809	10.9789	1.9231	23.3096	34.0164
6	12	Peso1	10	243.6000	24.2496	212.0000	240.5000	279.0000
		Peso2	10	271.7000	28.3629	222.0000	273.5000	305.0000
		Peso3	9	301.1111	33.6357	235.0000	306.0000	342.0000
		DifPeso	9	59.5556	34.0922	16.0000	53.0000	130.0000
		Porc_DifPeso	9	25.3750	16.3435	7.3059	24.3119	61.3208

Quadro 2 - Comparação da variável peso, no momento inicial, entre os grupos

Wilcoxon Scores (Rank Sums) for Variable Pesol Classified by Variable Grupo					
Grupo	N	Sum of Scores	Expected Under H0	Std Dev Under H0	Mean Score
1	6	228.50	156.0	34.198297	38.083333
2	6	291.00	156.0	34.198297	48.500000
3	10	158.50	260.0	42.141940	15.850000
4	9	259.00	234.0	40.463971	28.777778
5	10	214.00	260.0	42.141940	21.400000
6	10	175.00	260.0	42.141940	17.500000

Average scores were used for ties.

Kruskal-Wallis Test

Chi-Square	26.9219
DF	5
Pr > Chi-Square	<.0001

Quadro 3 - Comparação da diferença entre o último e o primeiro momentos, da variável peso, entre os grupos

Wilcoxon Scores (Rank Sums) for Variable DifPeso Classified by Variable Grupo					
Grupo	N	Sum of Scores	Expected Under H0	Std Dev Under H0	Mean Score
1	6	276.00	150.0	32.785520	46.000000
2	6	241.00	150.0	32.785520	40.166667
3	9	197.00	225.0	38.727857	21.888889
4	9	123.50	225.0	38.727857	13.722222
5	10	198.00	250.0	40.309232	19.800000
6	9	189.50	225.0	38.727857	21.055556

Average scores were used for ties.

Kruskal-Wallis Test

Chi-Square	27.7664
DF	5
Pr > Chi-Square	<.0001

Quadro 4 - Comparação da diferença, em porcentagem, entre o último e o primeiro momentos, da variável peso, entre os grupos

Wilcoxon Scores (Rank Sums) for Variable Porc_DifPeso Classified by Variable Grupo					
Grupo	N	Sum of Scores	Expected Under H0	Std Dev Under H0	Mean Score
1	6	279.0	150.0	32.787193	46.500000
2	6	225.0	150.0	32.787193	37.500000
3	9	209.0	225.0	38.729833	23.222222
4	9	120.0	225.0	38.729833	13.333333
5	10	198.0	250.0	40.311289	19.800000
6	9	194.0	225.0	38.729833	21.555556

Kruskal-Wallis Test	
Chi-Square	26.1630
DF	5
Pr > Chi-Square	<.0001

Quadro 5 - Análise descritiva para as variáveis quantitativas relacionadas ao exame de sangue e ao estudo do fígado, por grupo

Grupo	N	Variable	N	Mean	Std Dev	Minimum	Median	Maximum
1	6	Ferro_Ser	6	191.5000	24.0312	146.0000	196.0000	218.0000
		UIBC	6	295.0000	17.2395	275.0000	293.5000	319.0000
		TIBC	6	486.5000	33.4769	426.0000	499.0000	515.0000
		Ferritina	6	0.8050	0.7471	0.5000	0.5000	2.3300
		Porc_IST	6	39.2589	3.0708	34.2723	39.2204	43.1683
		Figado_Peso	6	14.0600	1.0520	12.7700	14.3950	15.3900
		Figado_Fe	6	1.4886	0.1486	1.2905	1.4581	1.7082
2	6	Ferro_Ser	6	125.1667	11.1071	113.0000	123.0000	139.0000
		UIBC	6	335.3333	49.4476	255.0000	333.0000	390.0000
		TIBC	6	460.5000	44.8587	378.0000	463.5000	503.0000
		Ferritina	6	0.5770	0.1012	0.5000	0.5490	0.7560
		Porc_IST	6	27.4738	4.1430	22.4652	28.1649	32.5397
		Figado_Peso	6	12.9417	1.9325	11.0700	12.0400	15.8700
		Figado_Fe	6	2.3955	0.2403	2.1476	2.3741	2.7138
3	12	Ferro_Ser	10	188.0000	86.1033	81.0000	177.5000	305.0000
		UIBC	10	249.0000	76.2627	135.0000	275.5000	346.0000
		TIBC	10	437.0000	45.8161	360.0000	443.0000	499.0000
		Ferritina	9	0.8333	0.7284	0.5000	0.5000	2.6100
		Porc_IST	10	42.4497	18.3893	21.4286	35.9912	69.3182
		Figado_Peso	11	9.6991	1.6511	7.7700	9.8500	13.8200
		Figado_Fe	9	1.7522	0.2641	1.3327	1.6918	2.2163
4	12	Ferro_Ser	10	127.2000	47.5834	28.0000	141.0000	182.0000
		UIBC	10	277.4000	46.5599	200.0000	269.0000	346.0000
		TIBC	10	404.6000	40.3683	359.0000	401.5000	488.0000
		Ferritina	9	0.6190	0.2447	0.5000	0.5000	1.2400
		Porc_IST	10	31.2373	11.3242	7.5269	33.3200	44.4444

		Figado_Peso	11	10.0773	1.9338	6.9900	10.1200	14.0300
		Figado_Fe	9	2.2273	0.6351	1.5518	1.9352	3.3697
5	11	Ferro_Ser	10	177.7000	77.7704	71.0000	169.0000	296.0000
		UIBC	10	268.2000	103.4427	42.0000	290.5000	402.0000
		TIBC	10	445.9000	59.2667	338.0000	465.0000	498.0000
		Ferritina	10	0.5023	0.0073	0.5000	0.5000	0.5230
		Porc_IST	10	40.9007	21.5192	18.6235	36.4942	87.5740
		Figado_Peso	11	9.3182	1.2233	7.7300	8.7400	11.7500
		Figado_Fe	9	1.2269	0.4165	0.8339	1.2067	2.2184
6	12	Ferro_Ser	10	135.3000	60.8825	61.0000	124.0000	237.0000
		UIBC	10	281.9000	58.2703	191.0000	281.5000	349.0000
		TIBC	10	417.2000	83.0620	252.0000	434.5000	536.0000
		Ferritina	10	0.5630	0.1992	0.5000	0.5000	1.1300
		Porc_IST	10	31.6994	10.3916	19.0709	31.4323	44.2164
		Figado_Peso	11	10.2564	1.0700	8.5300	10.2500	11.7000
		Figado_Fe	9	1.4633	0.2291	1.1305	1.4364	1.7901

Quadro 5 (Continuação)

Grupo	N Obs	Variable	N	Mean	Std Dev	Minimum	Median	Maximum
1	6	HGB2	6	14.4000	0.2449	14.0000	14.4000	14.7000
		HGB3	6	14.6000	0.1897	14.4000	14.6000	14.8000
		HCT2	6	43.8500	2.2889	39.3000	44.6500	45.7000
		HCT3	6	48.4667	2.4105	43.8000	49.2500	50.3000
		VCM2	6	49.1667	1.2011	47.6000	49.3500	50.8000
		VCM3	6	54.0500	1.2598	52.2000	54.2500	56.0000
		HCM2	6	16.2167	0.6432	15.7000	16.0500	17.4000
		HCM3	6	16.3167	0.5269	15.7000	16.2000	17.2000
		RETC2	6	256.0000	25.3929	221.0000	254.0000	289.0000
RETC3	6	249.5000	21.1447	215.0000	248.5000	277.0000		
2	6	HGB2	6	14.9167	0.6795	13.7000	15.1000	15.7000
		HGB3	6	16.2833	0.5742	15.7000	16.1500	17.3000
		HCT2	6	46.4833	1.9793	43.0000	47.3500	48.3000
		HCT3	6	48.8500	2.3981	45.5000	48.7000	52.7000
		VCM2	6	50.2667	0.8359	49.3000	50.1500	51.3000
		VCM3	6	50.0500	0.9138	48.6000	50.1000	51.3000
		HCM2	6	16.1500	0.3271	15.6000	16.2000	16.5000
		HCM3	6	16.7500	0.9793	15.5000	16.8000	17.8000
		RETC2	6	216.3333	97.6005	126.0000	186.0000	384.0000
RETC3	6	269.5000	23.9144	231.0000	274.0000	294.0000		
3	12	HGB2	12	14.3200	1.7469	9.2400	14.7500	15.7000
		HGB3	10	14.5100	0.5384	13.3000	14.6500	15.0000
		HCT2	12	45.2167	1.9936	42.3000	45.1500	48.6000
		HCT3	10	46.8900	2.4246	44.6000	46.0500	51.8000
		VCM2	12	50.1250	1.3404	48.7000	49.7000	53.4000
		VCM3	10	50.6000	2.6708	47.3000	50.0000	55.1000
		HCM2	12	15.9133	2.0695	9.9600	16.2500	18.1000
		HCM3	10	15.6600	0.8758	14.1000	15.5500	17.5000
		RETC2	12	245.0833	59.7958	160.0000	239.0000	327.0000
RETC3	10	275.9000	47.3485	210.0000	278.0000	372.0000		
4	12	HGB2	12	14.8500	0.5018	14.1000	14.9000	15.6000
		HGB3	10	14.3200	0.7480	12.7000	14.4500	15.1000
		HCT2	12	44.8500	1.7717	41.5000	44.8500	48.2000
		HCT3	10	43.4700	3.3784	36.3000	43.9000	47.9000

		VCM2	12	50.8583	1.4042	49.3000	50.4500	54.9000
		VCM3	10	50.7200	1.9832	48.1000	50.5000	55.5000
		HCM2	12	16.8667	0.7402	15.8000	16.6000	18.1000
		HCM3	10	16.8200	1.5462	14.8000	16.8000	20.5000
		RETC2	12	241.2500	41.5170	170.0000	244.0000	300.0000
		RETC3	10	243.4000	60.8389	155.0000	235.0000	365.0000
5	11	HGB2	11	14.4000	0.8521	12.7000	14.6000	15.5000
		HGB3	10	15.2100	0.9983	13.5000	15.0000	17.2000
		HCT2	11	42.9364	2.3746	38.9000	43.4000	45.7000
		HCT3	10	47.2100	1.7259	45.5000	46.8000	50.4000
		VCM2	11	49.7727	1.7083	47.6000	49.8000	53.9000
		VCM3	10	49.0400	2.1660	46.3000	48.6500	54.0000
		HCM2	11	16.7182	1.0861	15.2000	17.1000	18.5000
		HCM3	10	15.7800	0.8176	14.3000	15.6000	17.4000
		RETC2	11	281.5818	230.3008	96.4000	229.0000	948.0000
		RETC3	10	205.5100	86.6503	41.0000	230.5000	286.0000
6	12	HGB2	12	14.4250	0.5328	13.4000	14.6000	15.0000
		HGB3	8	14.8500	0.7051	14.0000	14.8000	16.1000
		HCT2	12	43.6833	2.4602	39.5000	43.8000	47.5000
		HCT3	8	46.5000	4.9673	39.3000	45.4500	53.9000
		VCM2	12	49.6917	1.0220	48.2000	49.5500	52.3000
		VCM3	8	49.7875	3.5248	45.4000	48.9000	57.6000
		HCM2	12	16.4250	0.8740	15.2000	16.2500	17.9000
		HCM3	8	15.9375	1.0809	14.6000	15.8000	18.2000
		RETC2	12	276.1667	63.6365	195.0000	269.0000	395.0000
		RETC3	8	299.6250	80.0302	166.0000	303.5000	404.0000

Quadro 6 - Análise conjunta entre as variáveis esteatose e grupo

Grupo	Esteatose				
Frequency	0	1	2	3	Total
Percent					
Row Pct					
Col Pct					
1	6	0	0	0	6
	10.17	0.00	0.00	0.00	10.17
	100.00	0.00	0.00	0.00	
	27.27	0.00	0.00	0.00	
2	5	1	0	0	6
	8.47	1.69	0.00	0.00	10.17
	83.33	16.67	0.00	0.00	
	22.73	5.00	0.00	0.00	
3	4	7	0	1	12
	6.78	11.86	0.00	1.69	20.34
	33.33	58.33	0.00	8.33	
	18.18	35.00	0.00	9.09	
4	4	3	2	3	12
	6.78	5.08	3.39	5.08	20.34
	33.33	25.00	16.67	25.00	
	18.18	15.00	33.33	27.27	
5	1	5	2	3	11
	1.69	8.47	3.39	5.08	18.64
	9.09	45.45	18.18	27.27	
	4.55	25.00	33.33	27.27	
6	2	4	2	4	12
	3.39	6.78	3.39	6.78	20.34
	16.67	33.33	16.67	33.33	
	9.09	20.00	33.33	36.36	
Total	22	20	6	11	59
	37.29	33.90	10.17	18.64	100.00

grupol	esteatose1		
Frequency	0	1	Total
Percent			
Row Pct			
Col Pct			
1	11	1	12
	18.64	1.69	20.34
	91.67	8.33	
	50.00	2.70	
2	11	36	47
	18.64	61.02	79.66
	23.40	76.60	
	50.00	97.30	
Total	22	37	59
	37.29	62.71	100.00

Fisher: p < 0.0001

Quadro 7 - Análise de Variância (ANOVA), com transformação por postos, ajustada pelo peso inicial, para o ferro sérico, em relação aos grupos

<u>Efeito</u>	<u>p-valor</u>
Grupo	0,0415

* Não foi detectada nenhuma diferença estatisticamente significativa entre os pares de grupos.

Quadro 8 - Análise de Variância (ANOVA), com transformação por postos, ajustada pelo peso inicial, para o UIBC, em relação aos grupos

<u>Efeito</u>	<u>p-valor</u>
Grupo	0,9918

Quadro 9 - Análise de Variância (ANOVA), com transformação por postos, ajustada pelo peso inicial, para o TIBC, em relação aos grupos

<u>Efeito</u>	<u>p-valor</u>
Grupo	0,1650

Quadro 10 - Análise de Variância (ANOVA), com transformação por postos, ajustada pelo peso inicial, para a ferritina, em relação aos grupos

<u>Efeito</u>	<u>p-valor</u>
Grupo	0,8335

Quadro 11 - Análise de Variância (ANOVA), com transformação por postos, ajustada pelo peso inicial, para a porcentagem do IST, em relação aos grupos

<u>Efeito</u>	<u>p-valor</u>
Grupo	0,1916

Quadro 12 - Análise de Variância (ANOVA), com transformação por postos, ajustada pelo peso inicial, para o peso do fígado, em relação aos grupos

<u>Efeito</u>		<u>p-valor</u>	
Grupo		0,0007	
5	4	3	2
6	1		

Quadro 13 - Análise de Variância (ANOVA), com transformação por postos, ajustada pelo peso inicial, para a quantidade de ferro no fígado, em relação aos grupos

<u>Efeito</u>		<u>p-valor</u>	
Grupo		<0,0001	
5	1	6	3
2	4		

Quadro 14 - Análise de Variância (ANOVA) para medidas repetidas, com transformação por postos, ajustada pelo peso inicial, para a hemoglobina, em relação aos grupos e aos tempos

<u>Efeito</u>	<u>p-valor</u>
Grupo	0,0432
Tempo	0,0147
Grupo*Tempo	0,0050

Fixando cada tempo e comparando os grupos

tempo 1 - Não há diferença entre os grupos

tempo 2 - Há diferença entre os grupos:

4	1	3	6	5	2
---	---	---	---	---	---

Fixando cada grupo e comparando os tempos

Há diferença entre os tempos nos Grupos 1, 2 e 5 (tempo 2 maior)
Há diferença entre os tempos no Grupo 4 (tempo 2 menor)

Quadro 15 - Análise de Variância (ANOVA) para medidas repetidas, com transformação por postos, ajustada pelo peso inicial, para o hematócrito, em relação aos grupos e aos tempos

<u>Efeito</u>	<u>p-valor</u>
Grupo	0,0045
Tempo	0,5325
Grupo*Tempo	0,0049

Fixando cada tempo e comparando os grupos

tempo 1 - Há diferença entre os grupos

6	5	1	4	3	2

tempo 2 - Há diferença entre os grupos

4	6	3	5	1	2

Fixando cada grupo e comparando os tempos

Em todos os grupos, não há diferença entre os tempos

Quadro 16 - Análise de Variância (ANOVA) para medidas repetidas, com transformação por postos, ajustada pelo peso inicial, para o volume corpuscular médio, em relação aos grupos e aos tempos

<u>Efeito</u>	<u>p-valor</u>
Grupo	0,0347
Tempo	0,0784
Grupo*Tempo	<0,0001

Fixando cada tempo e comparando os grupos

tempo 1 - Não há diferença entre os grupos

tempo 2 - Há diferença entre os grupos

5	6	3	4	2	1

Fixando cada grupo e comparando os tempos

Em todos os grupos, não há diferença entre os tempos

Quadro 17 - Análise de Variância (ANOVA) para medidas repetidas, com transformação por postos, ajustada pelo peso inicial, para a hemoglobina corpuscular média, em relação aos grupos e aos tempos

<u>Efeito</u>	<u>p-valor</u>
Grupo	0,6724
Tempo	0,0161
Grupo*Tempo	0,0188

Fixando cada tempo e comparando os grupos

tempo 1 - Não há diferença entre os grupos

tempo 2 - Não há diferença entre os grupos

Fixando cada grupo e comparando os tempos

Há diferença entre os tempos somente no Grupo 1 (**tempo 2 maior**)

Quadro 18 - Análise de Variância (ANOVA) para medidas repetidas, com transformação por postos, ajustada pelo peso inicial, para o reticulócito, em relação aos grupos e aos tempos

<u>Efeito</u>	<u>p-valor</u>
Grupo	0,1575
Tempo	0,8269
Grupo*Tempo	0,2521

Quadro 19 - Análise descritiva para as variáveis absorção aparente de ferro, peso das fezes secas, excreção diária de ferro, consumo diário de ração e consumo diário de ferro, por grupo, considerando as gaiolas

Grupo	N	Variable	N	Mean	Std Dev	Minimum	Median	Maximum
1	18	AbsApar	15	0.1794	0.3038	-0.3485	0.1660	0.7824
		FezSec_Peso	18	5.4561	1.3838	2.5900	5.2700	8.4300
		ExcFe	15	0.9513	0.3199	0.4032	0.9220	1.5005
		ConsRac	18	23.7593	4.4234	9.6667	23.8333	30.3333
		ConsFe	18	1.1404	0.2123	0.4640	1.1440	1.4560
2	17	AbsApar	14	38.7161	10.8213	4.7502	39.4599	52.7257
		FezSec_Peso	17	17.4665	3.9607	11.2900	17.6100	22.5200
		ExcFe	14	9.8477	4.1647	2.2542	9.4680	18.1074
		ConsRac	17	32.8627	5.5051	15.6667	33.3333	39.6667
		ConsFe	17	47.9467	8.0320	22.8577	48.6333	57.8737
3	17	AbsApar	14	-0.0594	0.2469	-0.5945	0.0226	0.2393
		FezSec_Peso	15	7.4020	1.1524	5.3600	7.1600	9.2500
		ExcFe	14	1.1760	0.2985	0.7966	1.1279	1.7945

		ConsRac	17	22.9608	3.4235	18.0000	22.6667	29.3333
		ConsFe	17	1.1021	0.1643	0.8640	1.0880	1.4080
4	15	AbsApar	12	0.1732	0.2135	-0.1276	0.1686	0.5666
		FezSec_Peso	13	6.5154	1.8119	3.9200	6.5200	9.5000
		ExcFe	12	0.7946	0.1705	0.4626	0.8275	1.0295
		ConsRac	15	19.6444	4.4373	13.0000	19.3333	28.3333
		ConsFe	15	0.9626	0.2174	0.6370	0.9473	1.3883
5	18	AbsApar	15	-0.3007	0.6968	-2.7280	-0.1083	0.0755
		FezSec_Peso	18	8.0094	2.1767	2.9100	8.1450	12.7500
		ExcFe	15	0.6468	0.6987	0.1965	0.4459	3.0623
		ConsRac	18	20.1852	4.5219	7.0000	20.0000	27.6667
		ConsFe	18	0.3431	0.0769	0.1190	0.3400	0.4703
6	17	AbsApar	14	-0.0104	0.2318	-0.7372	0.0507	0.2107
		FezSec_Peso	17	7.3888	1.4170	5.3200	7.0200	9.9400
		ExcFe	14	0.4569	0.2025	0.2961	0.3883	1.1172
		ConsRac	17	23.7451	3.2286	18.6667	23.3333	29.6667
		ConsFe	17	0.4512	0.0613	0.3547	0.4433	0.5637

Quadro 20 - Análise de Variância (ANOVA) para medidas repetidas, com transformação por postos, ajustada pelo peso inicial, para a absorção aparente de ferro, em relação aos grupos e aos tempos

<u>Efeito</u>	<u>p-valor</u>
Grupo	0,1550
Tempo	0,1850
Grupo*Tempo	0,1881

Quadro 21 - Análise descritiva para a variável consumo de ração por grupo.

Grupo	N	MÉDIA	D.P.	MÍN	MEDIANA	MÁX
1	18	23.76	4.42	9.67	23.83	30.33
2	17	32.86	5.51	15.67	33.33	39.67
3	17	22.96	3.42	18.00	22.67	29.33
4	15	19.64	4.44	13.00	19.33	28.33
5	18	20.19	4.52	7.00	20.00	27.67
6	17	23.75	3.23	18.67	23.33	29.67

Quadro 22 - Comparação da variável consumo de ração entre os 6 grupos.

Wilcoxon Scores (Rank Sums) for Variable ConsumoRacao Classified by Variable Grupo					
Grupo	N	Sum of Scores	Expected Under H0	Std Dev Under H0	Mean Score
1	18	1015.50	927.00	113.872703	56.416667
2	17	1512.00	875.50	111.321143	88.941176
3	17	808.50	875.50	111.321143	47.558824
4	15	436.00	772.50	105.791065	29.066667

5	18	584.00	927.00	113.872703	32.444444
6	17	897.00	875.50	111.321143	52.764706

Average scores were used for ties.

Kruskal-Wallis Test

Chi-Square	44.1752
DF	5
Pr > Chi-Square	<.0001

<u>Efeito</u>		<u>p-valor</u>
<u>Grupo</u>		<u><0,0001</u>
4	5	3
6	1	2

Bibliografia

Conover, W.J. (1971). *Practical Nonparametric Statistics*. John Wiley & Sons Inc. New York.

Fleiss, J.L. (1981). *Statistical Methods for Rates and Proportions*. John Wiley & Sons. 2nd ed. New York.

Montgomery, D.C. (1991). *Design and Analysis of Experiments*. 3^a ed. John Wiley & Sons. New York.

Programa computacional

SAS System for Windows (Statistical Analysis System), versão 9.1.3 Service Pack 3. SAS Institute Inc, 2002-2003, Cary, NC, USA.