UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS E NUTRIÇÃO

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE GALACTOOLIGOSSACARÍDEO E POLIDEXTROSE SOBRE A ABSORÇÃO DE CÁLCIO E FERRO EM RATOS GASTRECTOMIZADOS

ELISVÂNIA FREITAS DOS SANTOS
Nutricionista

Campinas
2007

ELISVÂNIA FREITAS DOS SANTOS
Nutricionista

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE GALACTOOLIGOSSACARÍDEO E POLIDEXTROSE SOBRE A ABSORÇÃO DE CÁLCIO E FERRO EM RATOS GASTRECTOMIZADOS

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do Título de Mestre em Alimentos e Nutrição - Área de Nutrição Básica Experimental Aplicada à Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Celio Kenji Miyasaka

Campinas
2007

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FEA – UNICAMP

Santos, Elisvânia Freitas dos
Sa59e Efeitos da suplementação de galactooligossacarídeo e polidextrose sobre a absorção de cálcio e ferro em ratos gastrectomizados / Elisvânia Freitas dos Santos. -- Campinas, SP: [s.n.], 2007.

Orientador: Célio Kenji Miyasaka
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos

1. Galactooligossacarídeo. 2. Polidextrose. 3. Gastrectomia. 4. Anemia. 5. Rato. I. Miyasaka, Célio Kenji. II. Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.

Título em inglês: Effects of supplementation of the galactooligosaccharides and polydextrose on the calcium and iron absorption in gastrectomized rats
Área de concentração: Nutrição Básica Experimental Aplicada à Tecnologia de Alimentos
Palavras-chave em inglês (Keywords): Galactooligosaccharides, Polydextrose, Gastrectomy, Anemia, Rat
Titulação: Mestre em Alimentos e Nutrição
Banca examinadora: Celio Kenji Miyasaka
Valdemiro Carlos Sgarbieri
Nelson Adami Andreollo
Nádia Fátima Gibrim Pereira Dias
Programa de Pós Graduação: Programa em Alimentos e Nutrição

ELISVÂNIA FREITAS DOS SANTOS

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE GALACTOOLIGOSSACARÍDEO E POLIDEXTROSE SOBRE A ABSORÇÃO DE CÁLCIO E FERRO EM RATOS GASTRECTOMIZADOS

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do Título de Mestre em Alimentos e Nutrição - Área de Nutrição Básica Experimental Aplicada à Tecnologia de Alimentos.

Aprovado em ___/___/_____

Banca Examinadora

_____

Prof. Dr. Celio Kenji Miyasaka
Faculdade de Engenharia de Alimentos – UNICAMP
Orientador

_____

Prof. Dr. Valdemiro Carlos Sgarbieri
Faculdade de Engenharia de Alimentos – UNICAMP
Membro

_____

Prof. Dr. Nelson Adami Andreollo
Faculdade Ciências Médicas – UNICAMP
Membro

_____

Profa. Dra. Nádia Fátima Gibrim Pereira Dias
Centro Universitário de Votuporanga – UNIFEV
Membro

"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

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

Ao Prof. Celio Kenji Miyasaka, pela amizade, pela atenção, ensinamentos e excelente orientação em todos os momentos;

E em especial ao meu noivo 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;

Dedico.

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.

Ao meu noivo Marcelo, pelo amor, companhia, incentivo, compreensão e principalmente paciência.

Aos meus irmãos, Elisângela e Elivander, pelo carinho, atenção e ombro amigo nos momentos mais difíceis.

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.

Ao amigo, "paizão" e orientador Prof. Dr. Celio Kenji Miyasaka, pelo exemplo de seriedade e conduta científica, pela atenção e orientação segura durante todos esses anos, pelo apoio e confiança no meu trabalho.

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

À minha companheira e amiga Kathia Hitomi Tsuboi, que esteve ao meu lado durante toda a execução deste trabalho.

Aos meus amigos, companheiros e "irmãos" de laboratório: Maria Inês Abecia-Soria, Claudia Cardoso Netto, Cristina Rebolho, Laura A. Cavalheiro, Pablo C. B. Lollo, Caren F. Navarro, Luciane Berno e Paula Poeta. Em especial a "Super Mãe" do laboratório Maria Inês Abecia Soria pela amizade,

companheirismo, pela imensa e valiosa ajuda durante e depois do desenvolvimento da minha tese e com quem aprendi muito. E também a Fabiane La Flor Ziegler e Janesca Alban Roman pela ajuda, amizade, carinho e ajuda durante todo o trabalho.

Aos meus amigos e companheiros inesquecíveis de ingresso no mestrado: Ana Claúdia Coelho Neto, Elisa de Almeida Jackix, Iara Ribeiro Cavalheiro, Pablo C.B.Lollo e Telma Faraldo.

As minhas companheiras de "cafofo": Caroline Pazinatto, Micheliy Copobiango, Sumiê e Virgínia.

A Nádia Fátima Gibrim Pereira Dias e Helaine Beatriz Jacobucci, amigas e eternas professoras, pela atenção, amizade, oportunidade e carinho sempre me dedicado.

Aos amigos e colegas do Departamento de Alimentos e Nutrição da Faculdade de Engenharia de Alimentos, pelos momentos de descontração.

A todos os funcionários do DEPAN: Isabel de Fátima Valentino, Maria Aparecida Vasconcellos Osteti (Cidinha), Sônia Aparecida Rinaldi Mendonça, Eliana Maria Pettirossi Motta, Carla de Marco Greghi, Francisco Carraro, Eliete de Carvalho Leite (Lia), Soely Maria Pissini Machado Reis, Celis Aparecida Scavassani, Irenice Paulino dos Santos (Nice), Elizabeth Freitas Silva (Beti), Yara Fagnani Honório pela amizade e colaboração. Em especial a Maria Susana Correa Alves da Cunha, pela ajuda, ensinamentos e amizade.

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

Ao Prof. Dr. Nelson Adami Andreollo por ter concedido o Laboratório de Ensaio Biológico (LEB) no Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental (NMCE) que foi onde se realizou a fase experimental deste projeto, bem como, pelo apoio e conselhos inestimáveis e pela assessoria irrestrita na realização do procedimento cirúrgico.

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.

A Beatriz Frolini, pelo auxílio na realização do procedimento cirúrgico.

Aos biólogos William Adalberto Silva e Ana Cristina de Moraes, do laboratório de Cirurgia do N.M.C.E. pelo imprescindível auxílio.

A Sra. Maria Madalena de Abreu Rodrigues, Michelli, Antônio, Luiz, Márcio e a todos do Biotério do N.M.C.E., pela valiosa colaboração e auxílio nos cuidados com os animais na fase experimental deste projeto.

À Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), pela oportunidade de realizar este sonho.

À Faculdade de Ciências Médicas - FCM da UNICAMP, especialmente ao Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental pela viabilização da realização da parte experimental deste projeto.

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

Ao laboratório de Hematologia (Hemocentro-UNICAMP) pela realização das análises hematológicas desta pesquisa. Em especial a Mônica Almeida Falconi.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de mestrado concedida para realização deste trabalho.

Ao PIBIC pela bolsa de iniciação científica concedida para a realização deste projeto.

Ao Fundo de Apoio ao Ensino à Pesquisa e à Extensão (FAEPEX) pelo auxílio pesquisa, viabilizando a execução deste trabalho.

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

Às empresas YAKULT S/A Indústria e Comércio e DANISCO Brasil Ltda pela doação do Galactooligossacarídeo e Polidextrose utilizado neste trabalho. Bem como pela doação de insumos para a realização desta pesquisa.

A M.Cassab pela doação das misturas minerais e vitamínicas.

A Johnson & Johnson pela doação dos fios utilizados no procedimento cirúrgico e, em especial, ao Carlos Eduardo Prodocimo.

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

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.

ÍNDICE

Pág.

LISTA DE TABELAS XIII

LISTA DE FIGURAS XIV

LISTA DE ABREVIAÇÕES XVI

RESUMO XVIII

ABSTRACT XX

1 INTRODUÇÃO 1

2 REVISÃO DE LITERATURA 3

2.1 Cálcio 3
2.1.1 Metabolismo do cálcio 5
2.1.2 Absorção intestinal 6
2.1.3 Excreção endógena 9
2.1.4 Excreção urinária 9
2.1.5 Sistema esquelético 10
2.1.6 Osso 12

2.2 Ferro 15
2.2.1 Mecanismos de absorção, fisiologia e metabolismo do ferro 15
2.2.2 Excreção 18
2.2.3 Requerimento e ingestão de ferro 19
2.2.4 Deficiência de ferro 21

2.3 Sistema Digestório 23
2.3.1 Estômago 24
2.3.2 Câncer Gástrico 25
2.3.2.1 Gastrectomias e suas consequências 26

2.4 Alimentos funcionais e prebióticos 28
2.4.1 Galactooligossacarídeo (GOS) 29
2.4.2 Polidextrose 33

3 OBJETIVOS 37

3.1 Objetivo Geral 37

3.2 Objetivos Específicos 37

4 MATERIAL E MÉTODOS 39

4.1 Animais para experimentação 39

4.2 Dietas experimentais 39

4.3 Ensaio biológico 42
4.3.1 Condições experimentais 42
4.3.2 Delineamento experimental 42
4.3.3 Procedimento cirúrgico 45
4.3.4 Gastrectomia a BILLROTH II com Vagotomia Troncular Anterior 45
4.3.5 Materiais 46
4.3.6 Cuidados pós-operatórios 47
4.3.7 Acompanhamento do consumo de dieta e ganho de peso dos animais 47
4.3.8 Suplementação de Vitamina B_{12} (Cianocobalamina) 48

4.4 Métodos analíticos 49
4.4.1 Composição centesimal da ração comercial e da dieta formulada 49
4.4.2 Determinação de cálcio 52
4.4.2.1 Dieta 52
4.4.2.2 Sérico 52
4.4.2.3 Urinário 52
4.4.2.4 Fecal 53
4.4.2.5 Absorção aparente 53
4.4.2.6 Determinações ósseas 53
4.4.2.7 Determinação cinética da atividade da fosfatase alcalina óssea (termolábil) 54

4.4.3 Determinação de ferro 54
4.4.3.1 Dieta 55
4.4.3.2 Ferro fecal 55
4.4.3.3 Absorção aparente 55
4.4.3.4 Hematócrito, hemoglobina, volume corpuscular médio e hemoglobina corpuscular média 56
4.4.3.5 Ferro sérico 56

4.5 Análises estatísticas 57

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO 59

5.1 Composição centesimal da dieta comercial 59

5.2 Composição centesimal das dietas experimentais 59

5.3 Ensaio biológico 60
5.3.1 Monitoramento do peso dos animais 61
5.3.2 Consumo de dieta e ganho de peso dos animais 61
5.3.2.1 Consumo de dieta durante a fase experimental 62
5.3.2.2 Ganho de peso dos animais durante a fase experimental 63

5.4 Cálcio sérico 65

5.5 Cálcio urinário 66

5.6 Cálcio fecal / absorção aparente de cálcio 68

5.7 Cálcio ósseo 71

5.8 Determinação cinética da atividade da fosfatase alcalina termolábil (FAT) sérica 73

5.9 Ferro fecal / Absorção aparente de ferro 76

5.10 Hematócrito 79

5.11 Hemoglobina 81

5.12 Volume corpuscular médio (VCM) 83

5.13 Hemoglobina corpuscular média (HCM) 85

5.14 Ferro sérico 87

6 CONCLUSÕES 91

7 REFERÊNCIAS 93

8 ANEXOS 109

LISTA DE TABELAS

Pág.

Tabela 1. Referência de consumo dietético de cálcio por dia de acordo com a faixa etária – Dietary Reference Intake, (Food And Nutrition Board, 1998)..... 4

Tabela 2. Referência de consumo dietético de ferro por dia de acordo com a faixa etária – Dietary Reference Intake, (Food And Nutrition Board, 1998)..... 20

Tabela 3. Composição das dietas formuladas (g/kg) de acordo com a AIN-93M, (REEVES; NIELSON; FAHEY JR, 1993)..... 40

Tabela 4. Composição da mistura mineral, adaptada de Reeves, Nielson e Fahey Jr (1993)..... 41

Tabela 5. Composição da mistura vitamínica, Adaptada De Reeves, Nielson e Fahey Jr (1993)..... 41

Tabela 6. Composição centesimal (g/100g) e valor energético (Kcal/100g) da dieta comercial Nuvilab Cr – 1; Nuvital®..... 59

Tabela 7. Composição centesimal (g/100g), cálcio (mg/g), ferro (mg/g) e valor energético (Kcal/100g) das dietas experimentais formuladas de acordo com a AIN-93M (REEVES; NIELSON; FAHEY JR, 1993)... 60

Tabela 8. Valores Médios ± Erro Padrão Da Média (EPM) Do Consumo de dieta (g), ganho de peso e eficiência alimentar dos grupos experimentais do ensaio biológico efetuado com ratos, durante 60 dias..... 62

LISTA DE FIGURAS

Pág.

Figura 1. Modelo proposto para a absorção ativa e passiva de cálcio (WEAVER; HEANEY, 2003, p.156). 7

Figura 2. Imagem de osso longo, tendo como exemplo o úmero. Corte longitudinal. (BRITO; FAVARETTO, 1997). 13

Figura 3. Modelo proposto para a absorção de ferro (ANDERSON, 2002, p. 123). 16

Figura 4. Estrutura anatômica do estômago humano (GUYTON; HALLI, 2002) ... 25

Figura 5. Comportamento dos oligossacarídeos não-digeríveis no trato digestório humano. 31

Figura 6. Estrutura do galactooligossacarídeo (TUNGLAND; MEYER, 2002)..... 32

Figura 7. Estrutura da polidextrose (CRAIG et al., 1998). 34

Figura 8. Caixas coletivas (a) e gaiola metabólica (b) de acordo com as condições experimentais/laboratório de Enzimologia e Carcinogênese do Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental da Faculdade de Medicina da Unicamp. 42

Figura 9. Esquema do delineamento experimental do ensaio biológico..... 44

Figura 10. Administração de vitamina B_{12} no grupo gastrectomizado (a) e solução fisiológica no grupo Sham (b). 48

Figura 11. Evolução ponderal (g) dos no estágio inicial (antes do procedimento cirúrgico) alimentados com dieta comercial. 61

Figura 12. Consumo médio de dieta (g /dia) durante o ensaio biológico..... 63

Figura 13. Evolução ponderal (g) dos animais durante todo o período experimental. 64

Figura 14. Concentrações médias ± EPM de cálcio sérico (mg/dl) após 60 dias de experimentação dos grupos sham e operados. 66

Figura 15. Concentrações médias ± EPM de cálcio urinário (mg/24h) dos grupos Sham e Operados..... 68

Figura 16. Concentrações médias ± EPM de cálcio fecal (mg/g fezes) dos grupos Sham e Operado. 69

Figura 17. Absorção aparente do cálcio (mg/dia) ± EPM dos grupos Sham e Operado..... 71

Figura 18. Concentrações médias ± EPM de cálcio ósseo (mg/g de osso) dos grupos Sham e Operado..... 73

Figura 19. Concentrações médias ± EPM da atividade da fosfatase alcalina óssea (termolábil) sérica..... 76

Figura 20. Concentrações médias ± EPM de ferro fecal (mg/g fezes) dos grupos Sham e Operado. 77

Figura 21. Absorção aparente do ferro (mg/dia) ± EPM dos grupos Sham e Operado..... 79

Figura 22. Dosagem de hematócrito (%) ± EPM nos tempo zero (inicial), intermediário (semana 4) e final (semana 8), do grupo Sham e Operado..... 81

Figura 23. Dosagem de hemoglobina (g/dl) ± EPM nos tempo zero (inicial), intermediário (semana 4) e final (semana 8), do grupo Sham e Operado..... 83

Figura 24. Dosagem de volume corpuscular médio (fentolitros) ± EPM nos tempo zero (inicial), intermediário (semana 4) e final (semana 8), dos animais dos grupos Sham e Operado. 85

Figura 25. Dosagem de hemoglobina corpuscular média (pg) ± epm nos tempo zero (inicial), intermediário (semana 4) e final (semana 8), do grupo Sham e Operado. 86

Figura 26. Concentrações médias ± EPM de ferro sérico (ug/dl). 89

LISTA DE ABREVIAÇÕES

AOAC – Associação Oficial de Análises Químicas

Ca – Cálcio

CEEA – Comitê de Ética em Experimentação Animal

CEMIB – Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica

CHCM – Concentração de hemoglobina corpuscular média

$CuSO_4$ – Sulfato de cobre

EPM – Erro padrão da média

Fe – Ferro

FOS – Fructooligossacarídeo

GOS – Galactooligossacarídeos

GP – Grau de polimerização

GXT – Gastrectomizado

H_2O_2 – Peróxido de hidrogênio

H_2SO_4 – Ácido sulfúrico

HCL – Ácido clorídrico

HCM – Hemoglobina corpuscular média

HNO_3 – Ácido Nítrico

INCA – Instituto Nacional do Câncer

K_2SO_4 – Sulfato de potássio

Mg – Magnésio

Na_2SO_4 – Sulfato de sódio

NaOH – Hidróxido de sódio

NDOs – Oligossacarídeos não-digeríveis

NMCE – Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental

OMS – Organização Mundial da Saúde

P – Fósforo

POLI – Polidextrose

PTH – Paratormônio

SCFA – Ácidos graxos de cadeia curta

SPF – Livres de patógenos específicos

TRP – Terapia de reposição hormonal

UNICAMP – Universidade Estadual de Campinas

VCM – Volume corpuscular médio

RESUMO

O câncer gástrico é o crescimento desordenado de células malignas nos tecidos do estômago e a cirurgia de ressecção gástrica parcial ou total é a principal alternativa terapêutica. Em decorrência deste procedimento cirúrgico podem ocorrer deficiências na absorção de alguns minerais como o cálcio e o ferro, podendo levar a osteoporose e a anemia, respectivamente. Os galactooligossacarídeos (GOS) e a polidextrose (POLI) são componentes fermentáveis que diminuem o pH intestinal favorecendo a absorção de minerais, melhorando a biodisponibilidade. Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi verificar o efeito da suplementação desses compostos na absorção do mineral cálcio e ferro em ratos gastrectomizados. Ratos adultos foram submetidos a um procedimento cirúrgico de gastrectomia associado à vagotomia troncular anterior, sendo divididos em dois grupos: gastrectomizados (**GXT**) e falso gastrectomizados (**SHAM**). Após 15 dias de pós-operatório foram divididos em oito sub-grupos:(**G1**= GXT / **C1**=Sham: dieta sem prebiótico; **G2**=GXT / **C2**=Sham: GOS 5%; **G3**=GXT / **C3**=Sham**:** POLI 5%; **G4**=GXT /**C4=**Sham**:** GOS 2,5% + POLI 2,5%). Os animais gastrectomizados apresentaram menor consumo de dieta, porém sem diferença com relação ao peso. As dosagens de cálcio sérico e urinário foram menores nos animais gastrectomizados. A gastrectomia diminuiu a absorção aparente de cálcio, sendo que, a administração diária de GOS 5% e a POLI 5% aumentaram a absorção aparente de cálcio em C2 (48%) e C3 (52%) comparados ao C1. O procedimento cirúrgico diminuiu a absorção aparente de ferro em 60%. No entanto, em relação aos tratamentos a associação do GOS + POLI 2,5% aumentou em 52% a absorção de ferro no grupo C4 e 100% no G4. Além disso, o G4 apresentou a mesma absorção dos ratos que não sofreram nenhum tipo de tratamento e nem a cirurgia (C1). A POLI 5% também aumentou a absorção aparente de ferro em 73% em ratos GXT. Os animais do grupo Sham mantiveram os níveis de hematócrito e hemoglobina durante o período experimental. Já nos animais GXT, todos os tratamentos apresentaram redução de 14% nos níveis de hematócrito do tempo inicial à quarta semana. A partir da quarta semana, todos

animais GXT apresentaram uma leve tendência de recuperação, contudo os animais do grupo Poli 5% (G3) apresentaram uma plena recuperação. As dosagens de VCM e HCM foram menores nos animais GXT vs CO durante as 8 semanas do experimento, caracterizando uma anemia por deficiência de ferro (microcítica e hipocrômica), respectivamente. A concentração de ferro sérico foi menor nos animais GXT. A suplementação dos dois prebióticos aumentou em 15% o ferro sérico dos animais C4 em relação ao C1. Nos animais GXT o G3 em 51% e G4 em 94% foram maiores do que o G1. A ressecção gástrica parcial não apresentou grandes alterações no metabolismo de cálcio, sugerindo que esse protocolo experimental não seja o melhor modelo para a depleção de cálcio. A ressecção gástrica parcial induziu à má absorção de ferro, comprovando a eficiência do nosso modelo experimental para estudos relacionados ao metabolismo do ferro e há fortes evidências que a junção dos dois prebióticos GOS e POLI atuem como sinergistas, potencializando o efeito prebiótico.

Palavras-chave: Galactooligossacarídeo. Polidextrose. Gastrectomia. Anemia. Ratos.

ABSTRACT

The gastric cancer is a uncontrolled growth of the cells of the stomach, where the total or parcial gastric surgical resection is the main therapeutic alternative. Due to this procedure, the deficiencies in the absorption of some minerals such as calcium and iron could lead to an osteoporosis and anemia, respectively. The galactooligossacharides (GOS) and the polidextrose (POLI) are fermentable compounds that reduce the intestinal pH increasing the mineral absorption. Thus the purpose of this study was to verify the effects of supplementation of this compound in the absorption of calcium and iron in gastrectomized rats. Adult male rats were submitted to a gastrectomized surgical procedure associated to an anterior troncular vagotomy, them shared in two groups: gastrectomized (**GXT**) and Sham operated (**SHAM**) rats. After 15 days of surgery, the rats were shared in 8 sub-groups with the following diets: **G1**= GTX /**C1**=Sham: diet without prebiotics; **G2**= GTX /**C2**=Sham: 5% GOS diet; **G3**= GTX /**C3**=Sham: 5% POLI diet and **G4**= GTX /**C4**=Sham: 2.5% GOS + 2.5 POLI diet. The gastrectomized animals ingested a minor amount of feed, however this tow groups not showed differences in the body weight. The calcium in the serum and in the urine in the gastrectomized animals were reduced. The gastrectomy reduced the calcium apparent absorption, the daily administration of 5% GOS and 5% POLI increased the calcium apparent absorption in C2 (48%) and C3 (52 %) as compared to C1 group. The surgical procedure reduced the iron apparent absorption in 60%. However, the associated treatment with GOS + POLI 2,5% increased (52%) the absorption of iron in the C4 group and in the G4 group in 100%, as compared to C1 and G1 group respectively. This group also shoed the same absorption of rats which did not suffer any kind of surgery nor treatment (C1). The 5% POLI also presented an increased iron apparent absorption (73%) in GXT rats. The animals of Sham group sustained the hematocrit and hemoglobin during the experimental period. The GXT animals of all of the different diets showed a reduced hematocrit in 14% from the surgery to the 4^{th} week. From the 4^{th} to the 8^{th} week all of the GXT animals showed a slight trend of recuperation, but the animals of 5% POLI group (G3) presented a full

replenishment. The mean corpuscular volume (MCV) and the mean hemoglobin volume (MHV) were reducer in the GXT *vs* Sham animals during the 8 weeks of experimental period, this is a characteristic of anemia by an iron deficiency (microcitic and hypocromic). The concentration of iron in the serum was lower in the GXT animals. The supplementation of these two prebiotics (C4) increased (15%) the iron in the serum, also the GXT animals the G3 (51%) and G4 (94%) higher than the G1 group. The partial gastric resection did not showed sensible alteration in the calcium metabolism, suggesting that this protocol may not be the best model to the calcium depletion, however, it induced to a poor iron absorption proving the efficiency of our experimental model to the studies related to the iron metabolism and there are strong evidences that the association of GOS and POLI could have a synergistic effect increasing the effects of the prebiotics.
Keywords: Galactooligosaccharides. Polydextrose. Gastrectomy. Anemia. Rats.

1 INTRODUÇÃO

O câncer é o nome dado a um conjunto de doenças onde ocorre o crescimento desordenado de células, invadindo os tecidos e órgãos, podendo inclusive atingir outras regiões do corpo, processo este denominado metástase. Esta divisão rápida e desordenada das células tende a ter efeitos nefastos, determinando a formação de tumores (acúmulo de células cancerosas) ou neoplasias malignas (INCA, 2006).

O câncer de estômago é a doença em que células malignas são encontradas nos tecidos do estômago (KASSAB; LEME, 2003).

Em casos de diagnóstico de câncer gástrico o tratamento cirúrgico é a principal alternativa terapêutica (SAKAI et al., 2001). A ressecção gástrica parcial ou total permite ao paciente um alívio dos sintomas e o restabelecimento da saúde (INCA, 2006).

A osteomalácia e osteoporose são complicações reconhecidas em pacientes que tiveram ressecção gástrica (ZITTEL et al., 1997; PRISCO; LEVINE, 2005). Além disso, esses pacientes podem desenvolver anemia ao longo do tempo (PAPINI-BERTO; BURINI, 2001). Vários autores consideram a anemia por deficiência de ferro uma freqüente complicação da gastrectomia; atingindo 50% dos pacientes gastrectomizados (ROVIELLO et al., 2004; PAPINI-BERTO; BURINI, 2001).

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 (RIVERO-URGELL; SANTAMARIA-ORLEANS, 2001), promovendo a proliferação das bifidobactérias no cólon (CRITTENDEN; PLAYNE, 1996).

Dentre os prebióticos, os oligossacarídeos não digeríveis (NDOs), amido resistente, goma guar e inulina aumentam a absorção do cálcio (OHTA, et al., 1998a). Os galactooligossacarídeos (GOS) estão incluídos entre os NDOs e considerados fatores bifidogênicos não são metabolizados pelo hospedeiro alcançando o intestino para serem metabolizados por bifidobactérias (MODLER, 1994).

A polidextrose também é um prebiótico fermentável que conduz ao crescimento de microflora favorável, redução da microflora putrefativa e produção de ácidos graxos de cadeia curta (JIE et al., 2000), incrementando a concentração de cálcio nos ossos (HARA; SUZUKI; AOYAMA, 2000).

Deste modo, o objetivo do trabalho ora apresentado foi de verificar os efeitos da suplementação de galactooligossacarídeo e de polidextrose na absorção de cálcio e ferro em ratos gastrectomizados.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cálcio

O cálcio é um cátion bivalente (Ca^{+2}) (MILLER, 1996). Este elemento em solução doa facilmente seus elétrons permanecendo na forma iônica. Esta propriedade eletrostática tem um efeito importante no comportamento deste íon em soluções aquosas e na participação nos processos biológicos (WOOD, 2000).

O cálcio é o quinto elemento mais abundante na biosfera (depois de ferro, alumínio, silício e oxigênio). Além disso, é o mineral mais abundante no organismo, constitui cerca de 1,5 a 2% do peso corpóreo (1200g) e 39% dos minerais do corpo humano (WEAVER; HEANEY, 2003). Desse total, 99% encontram-se como tecido mineralizado na forma de fosfato de cálcio e uma parte pequena de carbonato de cálcio (hidroxiapatita), fornecendo rigidez e estrutura aos ossos e dentes. O 1% restante encontra-se no sangue, líquido extracelular, no músculo e em outros tecidos, mediando a contração vascular e vasodilatação, transmissão nervosa e secreção glandular (CASHMAN, 2002).

A ingestão dietética adequada de cálcio é um requerimento para toda a vida. É baseada na quantidade de cálcio necessária para repor as perdas diárias, considerando a eficiência da absorção intestinal (VANNUCCHI; MENEZES; CAMPANA, 1990). A referência de consumo dietético de cálcio por dia está descrita na Tabela 1.

Tabela 1. Referência de consumo dietético de cálcio por dia de acordo com a faixa etária – Dietary Reference Intake, (FOOD AND NUTRITION BOARD, 1998).

Faixa etária	RDA[1] / AI[2] (mg/dia)	UL[3] (mg/dia)
Lactente		
0-6 meses	210	ND[4]
7-12 meses	270	ND
Crianças		
1-3 anos	500	2500
4-8 anos	800	2500
Homens		
9-18 anos	1300	2500
19-50 anos	1000	2500
>51 anos	1200	2500
Mulheres		
9-18 anos	1300	2500
19-50 anos	1000	2500
>51 anos	1200	2500
Gestação		
≤18 anos	1300	2500
>19 anos	1000	2500
Lactação		
≤18 anos	1300	2500
>19 anos	1000	2500

[1] RDA= Ingestão Dietética Recomendada (Recommended Dietary Allowances)

[2] AI= Ingestão Adequada (Adequate Intake)

[3] UL= Limite Superior Tolerável de Ingestão (Tolerable Upper Intake Level)

[4] ND= Não Determinado (Not Determinable)

O leite e os produtos lácteos são fontes alimentares de cálcio. A biodisponibilidade do cálcio fornecido por esses produtos é muito alta e pode ser atribuída à forma mais solúvel do cálcio nesses alimentos, à presença de vitamina D e lactose, assim como à produção de fosfopeptídeos, a partir da digestão

intestinal da caseína, que aumentam a absorção desse mineral (WEAVER; HEANEY, 2003).

Em adultos, os derivados lácteos suprem, em média, 72% do cálcio na dieta, produtos de cereais cerca de 11%, vegetais verdes e frutas cerca de 6% (WEAVER; HEANEY, 2003) e a água (incluindo água mineral) cerca de 6% (GUÉGUEN; POINTILLART, 2000).

2.1.1 Metabolismo do cálcio

No sangue circulante, a concentração de cálcio é de 2,25-2,5 mmol. Cerca de 40 a 45% dessa quantidade estão ligados a proteínas plasmáticas, cerca de 8 a 10% estão complexados com íons tais como citrato, e 45 a 50% estão dissociados sob a forma de íons livres (LINDER, 1991; WEAVER; HEANEY, 2003). No líquido extracelular (fora dos vasos sanguíneos), a concentração de cálcio total é da ordem de 1,25 mmol, o que difere da concentração no plasma em virtude da ausência da maioria das proteínas plasmáticas no líquido extracelular (WEAVER; HEANEY, 2003).

O controle homeostático do cálcio envolve os processos de absorção, excreção, secreção e armazenamento no osso, para manter a concentração do cálcio ionizado no plasma dentro de uma faixa (2,1-2,3mmol). Esta regulação da concentração é obtida através de um sistema fisiológico que compreende a interação dos hormônios: paratormônio (PTH), do diidroxicolecalciferol ($1,25(OH)_2D_3$) e da calcitonina, que regulam a concentração do cálcio no espaço extracelular. A secreção destes hormônios é controlada pela concentração de cálcio ionizado no plasma (CASHMAN, 2002).

Quando a concentração plasmática de cálcio diminui, a glândula paratireóide é estimulada a liberar PTH. Este hormônio aumenta a remoção renal de fosfato, aumenta a reabsorção tubular renal de cálcio, ativa os locais de

reabsorção óssea, aumenta o trabalho dos osteoclastos nos locais onde ocorre reabsorção e ativa a vitamina D para aumentar a absorção intestinal de cálcio. O PTH e 1,25 $(OH)_2D_3$ atuam sinergicamente intensificando a reabsorção tubular renal de cálcio e para mobilizar reservas de cálcio do osso. Embora esse mecanismo regulador permita uma resposta rápida para corrigir hipocalcemia transitória, uma dieta cronicamente deficiente em cálcio, provoca sérias conseqüências para o esqueleto (WEAVER; HEANEY, 2003). A calcitonina é secretada quando as concentrações de cálcio plasmático estão elevadas (CASHMAN, 2002).

2.1.2 Absorção intestinal

O cálcio é absorvido na forma ionizada, sendo a presença de ácido clorídrico no estômago importante para converter os diferentes sais ingeridos em cloreto de cálcio (MENEGHELLI; TRONCON, 2001). O ácido gástrico dissolve o cálcio insolúvel da dieta, facilitando desse modo a absorção do cálcio na primeira porção do intestino (CASHMAN, 2002).

A absorção intestinal de cálcio é o resultado de dois processos: a) transporte ativo (transcelular), principalmente no duodeno e porção superior do jejuno; b) difusão passiva (paracelular), que ocorre por todo intestino delgado, principalmente no íleo e cerca de 5% no intestino grosso (PANSU; BRONNER, 1999) (Figura 1).

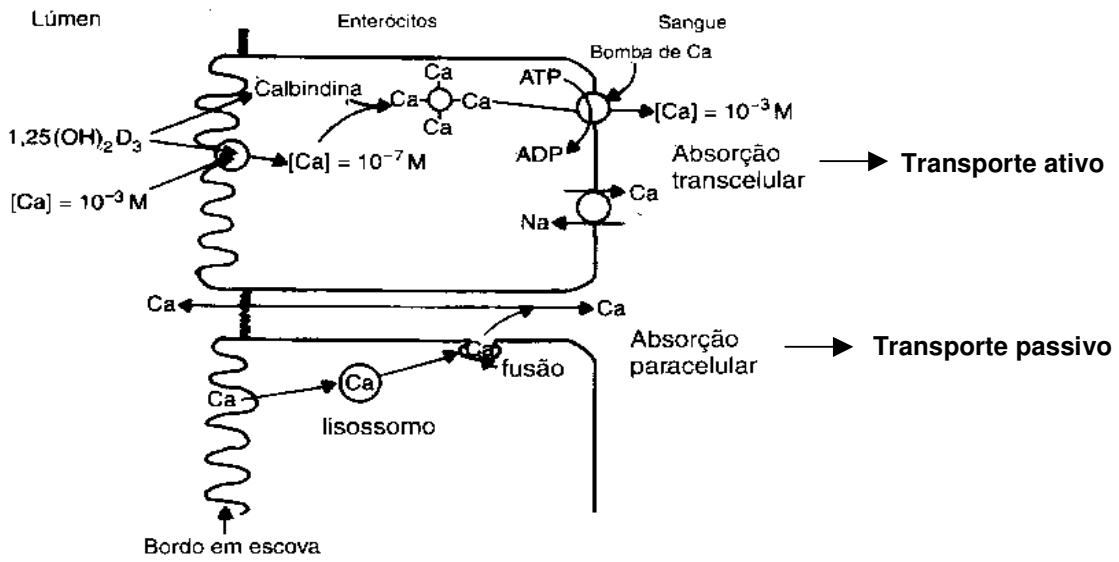


Figura 1. Modelo proposto para a absorção ativa e passiva de cálcio (WEAVER; HEANEY, 2003, p.156).

a) Absorção ativa

O sistema de transporte transcelular (ativo) pode se tornar saturado e é dependente da proteína calbindina, esse sistema envolve três estágios: passagem através da borda em escova pelos enterócitos, difusão através do citoplasma e secreção através da membrana basolateral para o líquido extracelular (WEAVER; HEANEY, 2003).

O metabólito ativo da vitamina D ($1,25(OH)_2D_3$) atua diretamente no controle do transporte ativo, regulando a migração do cálcio através das células intestinais (BRONNER, 1992).

b) Absorção passiva

O transporte de cálcio por difusão passiva ocorre de forma intercelular através das junções, envolvendo movimentação de água e solutos como sódio e glicose. Este tipo de transporte não satura e, portanto, aumenta conforme o

consumo dietético, desde que o cálcio esteja no intestino na forma absorvível (Ca^{+2}). Este tipo de transporte é independente de vitamina D e da idade (BRONNER, 1992).

Embora a absorção de cálcio ocorra principalmente na parte proximal do intestino, normalmente todas as porções intestinais apresentam capacidade de absorver esse mineral, inclusive o cólon, que capta cerca de 4% do cálcio ingerido (ALLEN, 1982).

Allen (1982) sugere que a fermentação bacteriana de componentes de vegetais no intestino pode ser um importante fator favorável na biodisponibilidade e absorção de cálcio pelo cólon.

As taxas de absorção intestinal oscilam entre 30 e 50%, sendo então, necessário haver um suprimento constante de cálcio dietético biodisponível para garantir a massa óssea (LANZILLOTTI et al., 2003).

Quando o cálcio absorvido da dieta é insuficiente para repor as perdas fecais e urinárias, o cálcio é captado do osso, para manter a concentração plasmática de cálcio iônico e preservar os níveis de cálcio intracelular e neuromuscular. Um balanço negativo de cálcio, em um primeiro momento, leva a uma mobilização inofensiva do cálcio ósseo, mas, em longo prazo, a remoção crônica do cálcio esquelético ocasiona efeitos adversos na solidez óssea, podendo causar ou agravar a hipocalcemia, osteoporose, raquitismo, osteomalácia e outras enfermidades ósseas (WEAVER; HEANEY, 2003).

A deficiência crônica de Ca é uma das causas da redução da massa óssea e osteoporose, que pode ser resultado de uma ingestão inadequada ou de uma pobre absorção intestinal (CASHMAN, 2002).

2.1.3 Excreção endógena

Além da função primordial de absorção intestinal de cálcio, o intestino também excreta este mineral por meio de secreções como a bile e, de maneira endógena, pelas fezes (GUÉGUEN; POINTLLART, 2000).

O cálcio fecal inclui o cálcio não absorvido da dieta mais o cálcio que entra no tubo digestório a partir de fontes endógenas, incluindo células descamadas da mucosa, saliva, suco gástrico, suco pancreático e bile. Essas perdas são inversamente proporcionais à eficiência da absorção e diretamente relacionadas à massa do tubo digestivo e, portanto, à ingestão alimentar (WEAVER; HEANEY, 2003).

Aproximadamente 150mg/dia de cálcio entram no lúmen intestinal, em secreções tais como a bile e sucos entéricos, sendo que 30% desse cálcio são reabsorvidos. A perda de cálcio endógeno pelas fezes, é cerca de 100mg/dia. A perda pela pele é de apenas 15mg/dia, embora o suor excessivo possa aumentá-la (GUÉGUEN; POINTLLART, 2000).

2.1.4 Excreção urinária

Quando as concentrações de cálcio plasmático elevam-se em resposta à absorção aumentada de cálcio, reabsorção tubular aumentada e reabsorção óssea, o limiar excretório renal altera-se e o cálcio extra é excretado na urina (WEAVER; HEANEY, 2003).

A perda urinária de cálcio resulta do balanço entre a filtração glomerular (em torno de 10g/dia) e reabsorção tubular, que recupera em torno de 98% do total filtrado (BROADUS, 1993). Cerca de apenas 0,2% (100 a 240mg) são eliminados diariamente pela urina (WEAVER; HEANEY, 2003).

Alguns fatores dietéticos podem influenciar na perda urinária de cálcio como o consumo simultâneo de fósforo (já que todos os alimentos ricos em cálcio são também ricos em fósforo) e certos constituintes dietéticos que aumentam o pH como, por exemplo, o bicarbonato e sais de potássio (GUÉGUEN; POINTILLART, 2000).

A perda de cálcio urinário pode ser potencializada por dietas ocidentais que contenham fatores desfavoráveis tais como proteína de origem animal (especialmente proteínas que contêm altas concentrações de aminoácidos sulfurados), sulfatos, sódio, café, chá e álcool (GUÉGUEN; POINTILLART, 2000).

2.1.5 Sistema esquelético

O sistema esquelético é formado pelo conjunto de ossos e cartilagens que se interligam para formar o arcabouço do corpo do animal. É tão essencial à vida quanto qualquer outro sistema orgânico (COTRAN; KUMAR; COLLINS, 2000). Possui três funções básicas: mecânica, protetora e metabólica. Sustenta o corpo, é o local onde se inserem os músculos; protege os órgãos nobres (vísceras), medula óssea; e é o maior reservatório dos íons cálcio (Ca), fósforo (P) e magnésio (Mg), necessários para a manutenção da homeostasia mineral (SZEJNFELD, 2000).

Os ossos por serem um tecido metabolicamente ativo, sofrem um processo contínuo de renovação e remodelação. Esta atividade é conseqüência, em sua maior parte, da atividade de dois tipos celulares principais, característicos do tecido ósseo: os osteoblastos e os osteoclastos (VIEIRA, 2005).

Os osteoblastos sintetizam e mineralizam a matriz protéica com cristais de hidroxiapatita, enquanto os osteoclastos promovem a reabsorção óssea, mantendo assim uma constante remodelação tecidual. Um terceiro tipo celular, os

osteócitos, derivados dos osteoblastos, são metabolicamente menos ativos e sua função é menos conhecida (VIEIRA, 2005).

A remodelação óssea é um processo que ocorre em todo o esqueleto, ao longo da vida, permitindo que o mesmo seja continuamente renovado. Ocorre por meio de dois ciclos intimamente acoplados: reabsorção e formação (JORGETTI, 2005). Os processos de formação e reabsorção ósseas são estreitamente acoplados, e seu ponto de equilíbrio determina a massa esquelética em qualquer momento do tempo de vida (COTRAN; KUMAR; COLLINS, 2000).

Assim, durante o crescimento e maturação esquelética (em torno de 20 anos) ocorre um acúmulo ósseo de cálcio na proporção de 150mg/dia, prevalecendo o processo de deposição deste mineral através da sobreposição da ação dos osteoblastos sobre os osteoclastos. Posteriormente, quando o indivíduo entra na idade adulta, entre 20 e 50 anos ou até a mulher entrar na menopausa, ocorre um equilíbrio entre os processos de absorção e reabsorção, estando o número e atividade dos osteoblastos e osteoclastos na mesma proporção. A partir dos 50 anos de idade ou nas mulheres após a menopausa, o processo de remodelação óssea se torna negativo, ou seja, a ação dos osteoclastos se sobrepõe aos osteoblastos, causando a perda óssea associada ao envelhecimento. Com isso, ocorre um aumento do risco de fraturas em ambos os sexos, porém, particularmente em mulheres (CASHMAN, 2002).

A massa óssea máxima é atingida durante o início da idade adulta (25 anos) e sua magnitude é determinada principalmente por fatores hereditários, bem como, a atividade física, força muscular, dieta e estado hormonal (RANZI; VINAY; TUKER, 2000). O cálcio é um substrato essencial para formação da massa óssea (RUSSO, 2001).

Sendo assim, o consumo adequado de cálcio é um fator crítico para se alcançar um ótimo pico de massa óssea e modificar a proporção de perda óssea fisiológica associada ao envelhecimento (NIH, 1994).

2.1.6 Osso

Os ossos são definidos como peças rígidas, de número, coloração e formas variáveis e que, em conjunto, constituem o esqueleto (DÂNGELO; FATTINI, 2003). Bioquimicamente, é definido por uma mistura especial de matriz orgânica (35%) e elementos inorgânicos (65%). O componente inorgânico, hidroxiapatita de cálcio é o mineral que confere força e resistência aos ossos, sendo o reservatório de 99% do cálcio corporal, 85% do fósforo corporal e 65% do sódio e magnésio corporais. Já o componente orgânico inclui as células do osso (células osteoprogenitoras, osteoblastos e osteócitos) e as proteínas da matriz (COTRAN; KUMAR; COLLINS, 2000).

Há dois tipos principais de ossos – o osso trabecular, que está presente particularmente nas vértebras (onde constitui aproximadamente 50% destas) e nas epífises dos ossos longos, caracterizando-se por ter uma estrutura mais esponjosa; e o osso cortical, que é o principal componente de ossos tubulares longos e caracteriza-se por ser compacto e rígido. Mas, não há limites precisos entre os dois tipos de tecido ósseo, porque as diferenças entre eles dependem da quantidade relativa de matéria sólida e do número e tamanho dos espaços de cada um (VELOSO; XIMENES, 2001) (Figura 2).

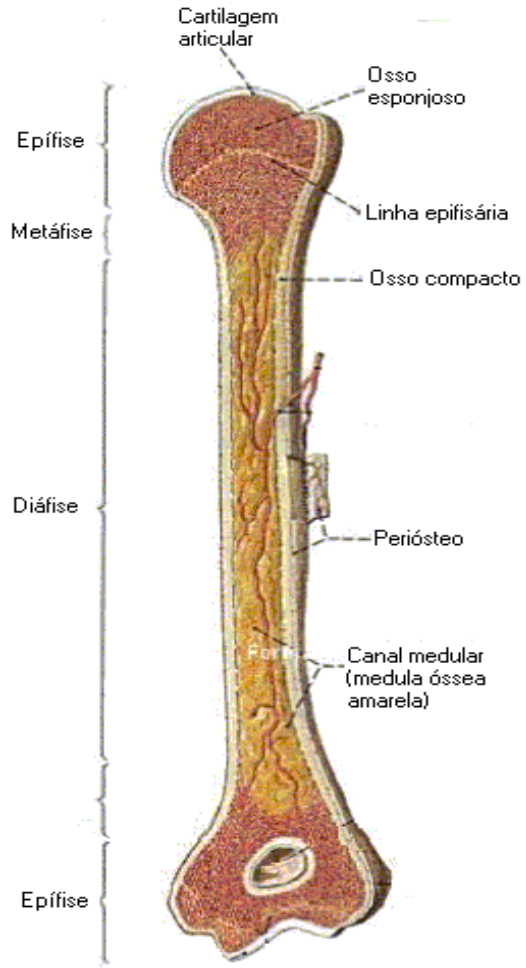


Figura 2. Imagem de osso longo, tendo como exemplo o úmero. Corte longitudinal. (BRITO; FAVARETTO, 1997).

Em indivíduos adultos a remodelação óssea é de aproximadamente 25% para o osso trabecular e de 3% para o osso cortical, sendo que o osso trabecular apresenta uma maior relação superfície/volume e é metabolicamente mais ativo (RIGGS; MELTON, 1995).

Assim, os ossos constituem um tecido metabolicamente ativo que sofre um processo contínuo de renovação e remodelação (VIEIRA, 2005). A remodelação óssea é um processo que ocorre em todo o esqueleto, ao longo da vida, permitindo que o mesmo seja continuamente renovado. Ocorre por meio de dois

ciclos intimamente acoplados (reabsorção e formação), determinado pela clássica seqüência: ativação, reabsorção e formação. Após a ativação, os osteoclastos formam a lacuna de reabsorção. Uma vez terminada esta fase, os pré-osteoblastos migram para a cavidade, diferenciam-se em osteoblastos e iniciam a formação da nova matriz óssea. A mineralização da matriz somente ocorre vários dias após sua síntese e, durante esse processo, alguns osteoblastos serão enclausurados, transformando-se em osteócitos. A esse conjunto de células ósseas e o osso novo formado dá-se o nome de unidade metabólica óssea (JORGETTI, 2005).

A remodelação se faz através de hormônios sistêmicos, bem como por algumas citocinas. Dentre os hormônios pode-se citar: o paratormônio (PTH), a 1,25 diidroxivitamina D_3 que atuam especificamente sobre a reabsorção óssea, influenciando na atividade dos osteoclastos; e a calcitonina, um hormônio polipetídico endógeno que também inibe a reabsorção óssea mediada pelos osteoclastos, porém , seu efeito é apenas transitório (LANNA; MONTENEGRO; PAULA, 2003).

Dentre as citocinas que promovem a remodelação óssea , estão: interleucina-1 α (IL-1), interleucina-6 (IL-6), fator de necrose tumoral-α (TNF-α), fator de transformação do crescimento-α (TGF-α), e o fator estimulador de colônia-1 (CSF-1), que atuam nos mecanismos de reabsorção óssea (KOBAYASHI; KIM; ITOH, 2005; TEITELBAUM, 2004). Por outro lado, a interleucina-18, interferon-γ e fator de crescimento tumoral-β (TGF-β) são citocinas que impedem a reabsorção óssea, favorecendo a mineralização (TEITELBAUM, 2004).

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 (férrico), sendo o íon ferroso totalmente hidrossolúvel nos níveis fisiológicos de pH mas, na presença de oxigênio molecular, ele pode ser oxidado para o estado férrico (MILLER, 1996).

Apesar de sua abundância, o ferro não é captado facilmente pelos organismos vivos em razão da sua insolubilidade em água, exceto em solução ácida (MILLER, 1996). 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 (CARPENTER; MAHONEY, 1992).

Em seres humanos, a quantidade total de ferro no corpo varia com o peso, a concentração de hemoglobina, o sexo e o tamanho do compartimento de armazenamento (FAIRBANKS, 2003). De acordo com Sharp, Tandy e Srai (2003) 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 (LATUNDE-DADA et al., 1998).

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 luminais e intraluminais que interferem ou facilitam a absorção (BARRIOS; GOMÈZ; DELGADO, 2000).

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, citrocromos 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 (BOCCIO et al., 2003).

A absorção do ferro no trato gastrintestinal 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 todas os outros compostos de ferro (LATUNDE-DADA et al., 1998; BENITO; MILLER, 1998) (Figura 3).

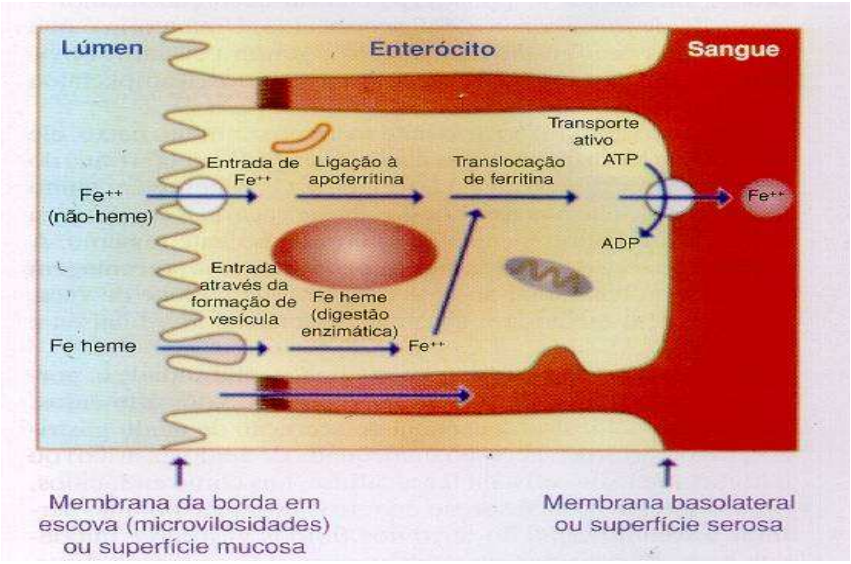


Figura 3. Modelo proposto para a absorção de ferro (ANDERSON, 2002, p. 123).

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 (BARRIOS; GOMEZ; DELGADO, 2000); e é proporcional à quantidade de inibidores e potenciadores da solubilidade (SHARP; TANDY; SRAI, 2003).

Algumas substâncias como o ácido ascórbico e certos aminoácidos podem formar quelatos de ferro de baixo peso molecular, facilitando a absorção intestinal, devido à 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 (BARRIOS; GOMEZ; DELGADO, 2000).

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 (BARRIOS; GOMEZ; DELGADO, 2000).

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 (FAIRBANKS, 2003).

A absorção do ferro ocorre em todas as porções do intestino delgado; predominantemente no duodeno e parte proximal do jejuno (GUYTON; HALL, 2002). 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) (BOCCIO et al., 2003).

2.2.2 Excreção

A capacidade de excreção de ferro do organismo é muito limitada (BARRIOS et al., 2000). 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 (DE ANGELIS; CTENAS, 1993).

A perda de ferro diária em homens adultos é entre 0,90 e 1,5mg/dia, ou aproximadamente 0,013mg/kg de peso corporal / dia. Destes, 0,35mg se perde pela matéria fecal; 0,10mg através da mucosa intestinal (ferritina); 0,20mg pela bile; 0,08mg por via urinária e 0,20mg por descamação cutânea (BARRIOS et al., 2000; FAIRBANKS, 2003). Importantes causas de perda de ferro são a doação de sangue, hemorragias intestinais e infestações parasitárias (BIANCHI et al., 1992). As mulheres na idade fértil estão expostas a uma depleção adicional de ferro que acompanha a menstruação (BARRIOS et al., 2000).

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 (FAIRBANKS, 2003).

2.2.3 Requerimento e ingestão de ferro

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 (SCHULTINK; GROSS, 1996).

O ferro é um micronutriente da classe dos microminerais (elementos traços), que são necessários em quantidades pequenas, tipicamente menos que 15mg/dia (WEAVER; HEANEY, 2003). A referência de consumo dietético de ferro por dia está descrita na Tabela 2.

Tabela 2. Referência de consumo dietético de ferro por dia de acordo com a faixa etária – Dietary Reference Intake, (FOOD AND NUTRITION BOARD, 1998).

Faixa etária	**RDA[1] / AI[2] (mg/dia)**	**UL[3] (mg/dia)**
Lactentes		
0-6 meses	0,27*	40
7-12 meses	11	40
Crianças		
1-3 anos	7	40
4-8 anos	10	40
Homens		
9-13 anos	8	40
14-18 anos	11	45
>19 anos	8	45
Mulheres		
9-13 anos	8	40
14-18 anos	15	45
19-50 anos	18	45
> 51 anos	8	45
Gestação		
≤18 anos	27	45
10-30 anos	27	45
31-50	27	45
Lactação		
≤18 anos	10	45
10-30 anos	9	45
31-50 anos	9	45

[1] RDA= Ingestão Dietética Recomendada (Recommended Dietary Allowances)

[2] AI= Ingestão Adequada (Adequate Intake)

[3] UL= Limite Superior Tolerável de Ingestão (Tolerable Upper Intake Level)

[*] Valor de AI

2.2.4 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 (BRUNKEN; SZARFARC, 1999).

A organização mundial da saúde (OMS), em 1968, 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 nutriente essencial, 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 conclui-se que a deficiência predominante era a de ferro chegando a ser cerca de 10 vezes mais alta que a do folato ou vitamina B_{12}.

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 (PAIVA; RONDÓ; GUERRA-SHINOHARA, 2000; STOLTZFUS, 2001). Esta é provocada pela deficiência de ferro no organismo e se apresenta 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 (BOCCIO et al., 2003).

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 (PAIVA; RONDÓ; GUERRA-SHINOHARA, 2000).

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 (PAIVA; RONDÓ; GUERRA-SHINOHARA, 2000;).

De acordo com Worwood (1997) o estado de 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 flebotomia quantitativa, ferro contido no fígado e 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 (PAIVA; RONDÓ; GUERRA-SHINOHARA, 2000;). Segundo Cook e Finch (1979), 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 (2001), realizaram estudos em animais e humanos e demonstraram que as deficiências de ferro seja leve, moderada ou severa, causam alterações da capacidade aeróbica, eficiência energética, atividade voluntária e produtividade.

2.3 Sistema Digestório

A manutenção do bom estado nutricional necessita, obrigatoriamente, da disponibilidade de todos os nutrientes, além de ser necessário que as suas quantidades sejam adequadas às necessidades do corpo naquele momento. Para o organismo receber esses nutrientes é necessário, e igualmente importante, que os alimentos possam ser ingeridos e que a digestão e a absorção se processem normalmente, além de que a incorporação e/ou conversão desses alimentos nos tecidos deve ocorrer harmonicamente. Nesse processo, sistema digestório é parte fundamental (PAPINI-BERTO; BURINI, 2001).

As funções do sistema alimentar incluem o recebimento, maceração e transporte das substâncias ingeridas; secreção de enzimas digestivas (ácidos, muco, bile e outros materiais); digestão de gêneros alimentícios ingeridos;

absorção e transporte dos produtos da digestão, armazenamento e excreção (GUYTON; HALL, 2002).

O trato alimentar constitui uma estrutura tubular que se estende a partir da orofaringe posterior até o ânus. Consiste em quatro segmentos contíguos: esôfago, estômago, intestino delgado e cólon (KLEIN et al., 2003).

2.3.1 Estômago

O estômago constitui um órgão assimétrico que se estende a partir da junção gastroesofagiana na cárdia até a junção gastroduodenal no piloro (SHILS et al., 2003) (Figura 4). O estômago proximal inclui o fundo e a parte superior do corpo e o estômago distal compreende a porção inferior e o antro. O piloro é um esfíncter situado na junção do antro com o bulbo duodenal. Ele regula o fluxo de conteúdos intraluminais do estômago para o duodeno (STENSON, 2003).

Além da função de reservatório do alimento (PAPINI-BERTO; BURINI, 2001), o estômago também fragmenta o alimento em partículas menores pela ação da musculatura antral e libera o conteúdo gástrico para o duodeno de uma maneira regulada; apresentando estas partículas ao intestino em uma velocidade que facilite a digestão e a absorção, permitindo uma mistura máxima com as secreções pancreáticas e biliares, e maior tempo de contato com a mucosa do intestino delgado (STENSON, 2003).

O alimento é processado no estômago por mistura e formação do quimo, quimicamente pela secreção de pepsina, de ácido clorídrico e do fator intrínseco A secreção gástrica facilita a digestão de nutrientes (SCHUBERT, 2003). Qualquer alteração das suas funções pode levar a danos no processo de digestão, prejudicando no delgado a absorção dos nutrientes (PAPINI-BERTO; BURINI, 2001).

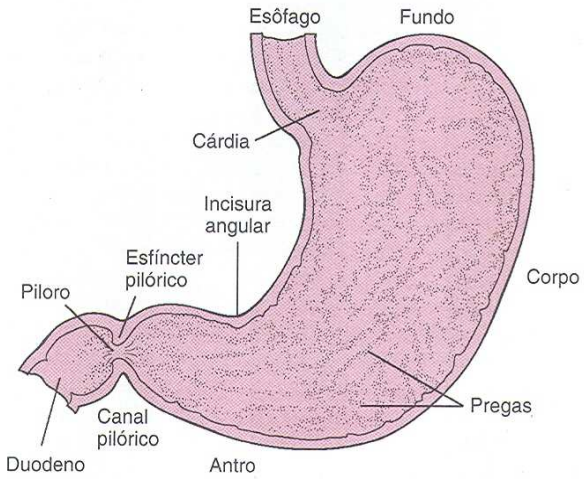


Figura 4. Estrutura anatômica do estômago humano (GUYTON; HALL, 2002)

Além disso, o estômago é fonte do fator intrínseco, uma proteína necessária para absorção de vitamina B_{12} no íleo. Pacientes submetidos à gastrectomia necessitam de administração parenteral de vitamina B_{12} para compensar a má absorção dietética decorrente da ausência de fator intrínseco. É importante ressaltar também, que em pacientes com gastrectomias (ressecção gástrica), a maior morbidade não está relacionada com a ausência do estômago como órgão digestivo, mas na verdade, com a ausência do estômago como reservatório de alimentos e regulador do fluxo de alimento ingerido para o intestino delgado (STENSON, 2003).

2.3.2 Câncer Gástrico

Câncer é uma designação genérica de qualquer tumor maligno; formado pela multiplicação desordenada de células de um tecido ou de um órgão. O tecido canceroso é formado por divisões celulares (mitoses) anormais, formando uma estrutura anárquica, em que nenhuma regularidade de disposição ou de relação existe. Esse tecido penetra por meio de múltiplas rupturas nos tecidos vizinhos, invadindo-os. Por fim, algumas células destacam-se da massa tumoral e pela

circulação sanguínea e linfática irão implantar-se em pontos mais ou menos distantes, formando outros tumores (*metástases*), cuja estrutura anárquica reproduz a do tumor primitivo (TEIXEIRA; NOGUEIRA, 2003).

A tumorigênese gástrica, assim como de outros órgãos, é processo de múltiplas etapas que, clinicamente, pode manifestar-se como gastrite, atrofia gástrica, ulcerações, metaplasia intestinal, displasias e, finalmente, como neoplasia maligna. Essas condições usualmente são seqüenciais e ocorrerem num período longo, como resultado da exposição a uma variedade de fatores endógenos e exógenos (CÉSAR et al., 2002).

O câncer de estômago é o 6º tipo de câncer de maior incidência no Brasil, onde cerca de 65% dos pacientes diagnosticados tem mais de 50 anos. O pico de incidência se dá em sua maioria em homens, por volta dos 70 anos de idade (INCA, 2006).

A ocorrência do câncer gástrico vem sendo associada à exposição de fatores intrínsecos decorrentes da constituição genética e a fatores extrínsecos, como o uso de dietas com altas concentrações de cloreto de sódio, nitratos, nitritos contidos em alimentos defumados e frituras (TEIXEIRA; NOGUEIRA, 2003). Quanto ao tabagismo, alguns estudos prospectivos mostram discreto risco aumentado entre os fumantes (NOMURA et al., 1990; KNELLER et al., 1991; BRITO, 1997). Considerando-se o consumo de álcool, alguns trabalhos demonstram risco elevado para câncer de estômago (HOEY et al., 1981; JEDRYCHOWSKY et al., 1986; BRITO, 1997).

2.3.2.1 Gastrectomias e suas consequências

A cirurgia de ressecção gástrica (gastrectomias) de parte ou de todo o estômago, além de permitir ao paciente um alívio dos sintomas, é praticamente a única forma de tratamento do câncer gástrico (INCA, 2006). Infelizmente, a

maioria dos pacientes procura recurso médico tardiamente, quando mais de 10% deles já são inoperáveis (CÉSAR; SILVA; TAJARA, 2002).

A quimioterapia e a radioterapia são considerados tratamentos secundários, ou seja, tem lugar apenas como coadjuvante da cirurgia ou como medida paliativa (ABIB, OLIVEIRA; KOIFMAN, 1997).

Na gastrectomia parcial o trânsito gastrointestinal é refeito por meio de anastomose com o duodeno (BILLROTH I-BI) ou jejuno (BILLROTH II-BII). Na retirada parcial ou total do estômago há remoção de todo o antro e conseqüente diminuição na secreção de ácido clorídrico (HCl) e do fator intrínseco (PAPINI-BERTO; BURINI, 2001).

Após a gastrectomia, a ingestão, a função digestiva do estômago e duodeno e os processos de absorção ficam diminuídos (PAPINI-BERTO; BURINI, 2001).

A ausência de acidez gástrica posterior a cirurgia pode afetar a absorção de cálcio, pois é um fator importante para a solubilização dos sais de cálcio não solúveis (HARA; SUZUKI; AOYAMA, 2000). Depois da ressecção gástrica a perda do conteúdo mineral do osso é acelerada e se torna mais pronunciada com o passar do tempo (PRISCO; LEVINE, 2005). A osteomalácia e osteoporose são complicações bem reconhecidas em pacientes que tiveram ressecção gástrica (ZITTEL et al., 1997; PRISCO; LEVINE, 2005). Alguns estudos demonstraram que a gastrectomia total em ratos diminui notavelmente a absorção de cálcio não solúvel e cálcio ósseo (OTHA et al., 1998a; HARA ; SUZUKI; AOYAMA, 2000). Segundo Schölmerich (2004), a redução do conteúdo mineral como conseqüência da gastrectomia parcial ou total tem sido descrita por vários autores e A deficiência de cálcio e as desordens ósseas acometem cerca de 30% dos pacientes após a gastrectomia.

A absorção do ferro também pode ser prejudicada após a gastrectomia, visto que ele é absorvido no duodeno e necessita do ácido clorídrico para manter-se na forma ferrosa que é melhor absorvida (OHTA et al., 1998b). De acordo com Schölmerich (2004) a deficiência de ferro acontece em até 70% dos pacientes gastrectomizados. A anemia é uma complicação bem comum depois da ressecção gástrica (SHIGA, et al., 2003), podendo acontecer em até 75% desses pacientes (SCHÖLMERICH, 2004).

Alguns alimentos funcionais, principalmente determinados tipos de oligossacarídeos como galactooligossacarídeos (GOS) e fructooligossacarídeos (FOS), têm sido sugeridos como estimuladores da absorção de minerais, favorecendo assim o seu balanço positivo (SCHOLZ-AHRENS; SCHREZENMEIR, 2002).

2.4 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 (ARAI, 1993).

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 (SGARBIERI; PACHECO, 1999).

O termo prebiótico é aplicado a substâncias que promovem o crescimento de microrganismos benéficos (SGARBIERI; PACHECO, 1999). Os prebióticos são ingredientes alimentares não digeríveis que podem ser utilizados no metabolismo de bactérias intestinais. As substâncias prebióticas como polidextrose (JIE et al., 2000), 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 (ZUBILLAGA et al., 2001). Os efeitos benéficos podem incluir a diminuição do risco das doenças intestinais, cardiovasculares, diabetes não insulino dependente, obesidade e osteoporose (MANNING; GIBSON, 2004).

Segundo Manning e Gibson (2004), 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.

2.4.1 Galactooligossacarídeo (GOS)

Os oligossacarídeos são açúcares encontrados como componentes naturais em muitos alimentos como frutas, vegetais, leite e mel. Alguns destes não apresentam só a função nutricional ou de adoçante, mas também exibem atividades fisiológicas, sendo assim denominados de ingredientes funcionais (NAKANO, 1998).

São geralmente definidos como glicosídeos que possuem entre 3 e 10 hexoses simples ligadas e contêm freqüentemente níveis baixos de monossacarídeos e dissacarídeos ou polissacarídeos (MURPHY, 2001). Eles

podem estar presentes naturalmente nos alimentos, ou podem ser produzidos através da biossíntese de hexoses naturais ou polissacarídeos e podem ser adicionados nos produtos alimentares devido às suas propriedades nutricionais ou características sensoriais (DELZENNE, 2003). Os sacarídeos (carboidratos) promovem modificação no sabor e nas características físico-químicas, e ainda apresentam propriedades benéficas para a saúde do consumidor (CRITTENDEN; PLAYNE, 1996).

Os carboidratos que participam da dieta são classificados pela massa molecular e pelo grau de polimerização (GP) em monossacarídeos, oligossacarídeos (GP=2-10) e polissacarídeos (GP>10). Outro tipo de classificação, baseada nas propriedades fisiológicas, é quanto a ser digeríveis ou não digeríveis. Nesse caso há três tipos principais de carboidratos não digeríveis: os polissacarídeos não amídicos, os amidos resistentes e os oligossacarídeos não digeríveis (NDOs) (VORAGEN, 1998).

Na Figura 5 está representado o comportamento dos oligossacarídeos não-digeríveis (NDOs) no trato digestório humano.

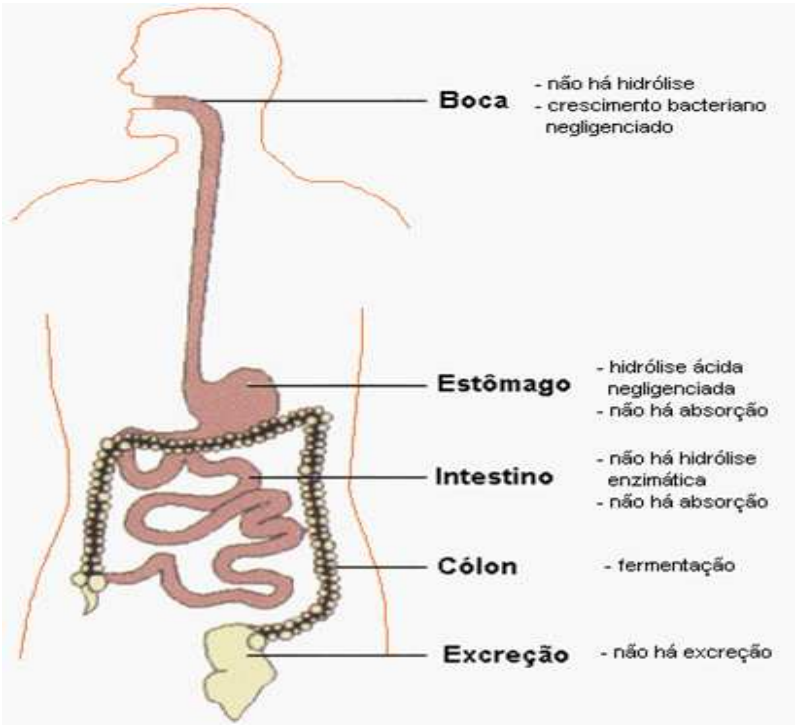


Figura 5. Comportamento dos oligossacarídeos não-digeríveis no trato digestório humano. Fonte: http://www.geocities.yahoo.com.br/anutricao

Os galactooligossacarídeos (GOS) também estão incluídos entre os oligossacarídeos não-digeríveis (NDOs). Os GOS são compostos por moléculas de galactose ligadas à lactose, sendo formados de tri a hexassacarídeos com 2-5 unidades de galactose unidas por ligações β (SAKO; MATSUMOTO; TANAKA, 1999). Sua produção ocorre por via bioquímica, quando a β-galactosidase age como uma enzima hidrolítica e também como uma enzima de condensação, neste caso, denominada de reação de transgalactosilação (PRENOSIL; STUKGR; BOURNE, 1987).

Na Figura 6 está representado a estrutura molecular do galactooligossacarídeo.

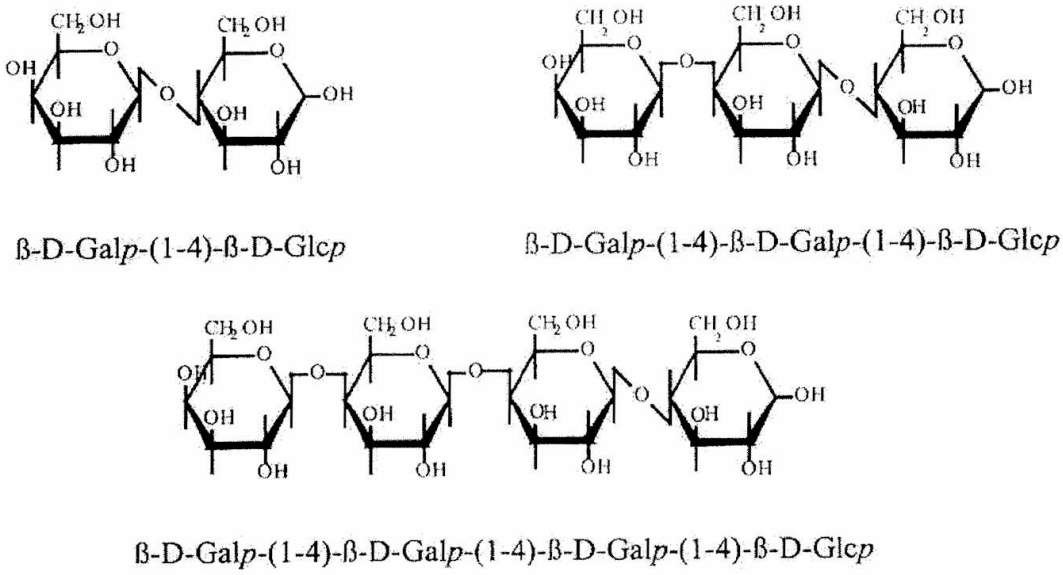


Figura 6. Estrutura do galactooligossacarídeo (TUNGLAND; MEYER, 2002).

Os galactooligossacarídeos apresentam configuração β e as enzimas digestivas gastrointestinais humanas são principalmente específicas para ligações α , sendo então, resistente a digestão e absorção no intestino, atingindo o ceco e o cólon onde são fermentados por bactérias (TOMOMATSU, 1994).

Um dos produtos finais da fermentação de carboidratos por bactérias são os ácidos graxos de cadeia curta (SCFA). Estes são eficientemente absorvidos estimulando a motilidade intestinal e a absorção de sais e água. Estudos em animais, claramente demonstraram que o aumento dos SCFA diminui o pH intestinal aumentando a solubilidade do cálcio (SHIKAWA et al., 1995).

Os GOS são definidos como compostos que não são metabolizados pelo hospedeiro e alcançam o intestino para serem metabolizados por bifidobactérias. A suplementação da dieta com estes fatores resulta em um aumento na ocorrência e no número de bifidobactérias, e inibem o crescimento de bactérias patogênicas, putrefativas ou organismos que causam produção excessiva de gás

(MODLER, 1994). Não apresentam toxicidade e somente é conhecido como efeito adverso a diarréia, quando os GOS são consumidos em excesso, sendo a dose estimada em 0,3-0,4g/kg de peso corpóreo (SAKO; MATSUMOTO; TANAKA, 1999).

Assim a ingestão de GOS promove a proliferação de bifidobactérias e redução das bactérias deterioradoras, conseqüentemente ocasionando efeitos benéficos para a saúde humana como: redução de metabólicos tóxicos e com isto uma desintoxicação do fígado; prevenção de diarréias patogênicas, devido a produção de ácidos graxos de cadeia curta pelas bifidobactérias; auxílio em processos de constipação; aumento de tolerância à lactose e além disso, a ingestão de GOS aumenta a mineralização óssea e a resistência contra fraturas, devido à estimulação da absorção de cálcio, podendo reduzir os riscos de osteoporose (BROUNS; VERMEER, 2000). Segundo Chonan e Watanuki (1995), a absorção de cálcio em ratos foi estimulada pela alimentação com GOS.

2.4.2 Polidextrose

A polidextrose (Figura 7) é um polissacarídeo sintetizado pela polimerização aleatória da glicose, na presença de quantidades menores de sorbitol e um catalizador ácido (aproximadamente 90:10:1, respectivamente), sob alta temperatura e vácuo parcial (JIE et al., 2000).

As ligações aleatórias do polímero de polidextrose impedem que as enzimas digestivas hidrolisem a molécula (MURPHY, 2001). 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 CO_2 (YOSHIOKA; SHIMOMURA; SUZUKI, 1994).

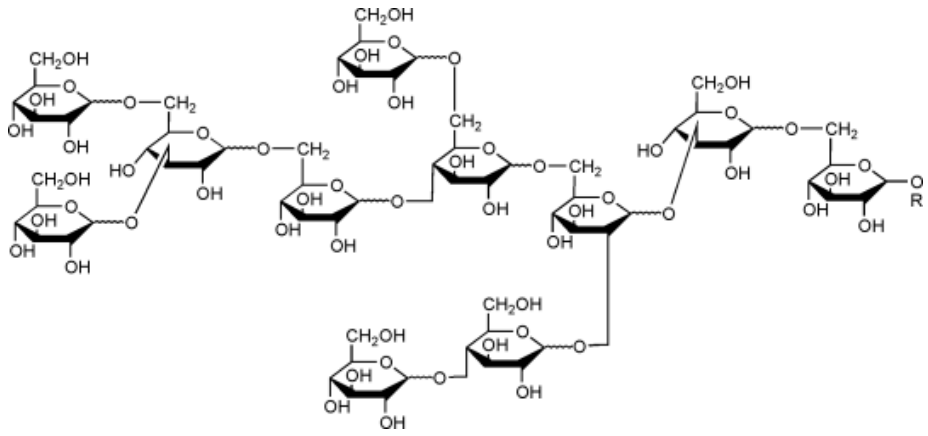


Figura 7. Estrutura da polidextrose (CRAIG et al., 1998).

Jie e colaboradores (2000) demonstraram que os efeitos fisiológicos da polidextrose são concordantes com os causados pelas fibras dietárias. Segundo Hara, Suzuki e Aoyama (2000) a polidextrose é uma fibra dietética pouco fermentável, com apenas 1 Kcal/grama, muito estável, de baixa viscosidade e amplamente distribuída.

A polidextrose é fermentada parcialmente no intestino grosso, aumentando o volume de massa fecal, reduzindo o tempo de trânsito, 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 (JIE et al., 2000). O intestino grosso possui capacidade de absorção de cálcio e a fermentação microbiana após a ingestão de materiais fermentáveis é considerada o mecanismo responsável pelo incremento da absorção de cálcio no intestino grosso (HARA; SUZUKI; AOYAMA, 2000).

Em estudo com humanos a polidextrose favoreceu a função intestinal e melhorou a facilidade de defecação. 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. Portanto, a

ingestão diária de 4-12g de polidextrose melhora a função fisiológica sem produzir efeitos adversos (JIE et al., 2000).

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 (HARA; SUZUKI; AOYAMA, 2000).

No entanto é possível identificar componentes e/ou ingredientes funcionais dos alimentos que pode influenciar positivamente a absorção do cálcio (KENNEFICK; CASHMAN, 2000), e de ferro (OHTA et al., 1998b) a fim de assegurar uma melhor biodisponibilidade (KENNEFICK; CASHMAN, 2000).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

- Avaliar o efeito da suplementação da dieta com galactooligossacarídeo e polidextrose na absorção de cálcio e ferro em ratos gastrectomizados.

3.2 Objetivos Específicos

- Determinar o cálcio sérico.
- Determinar o cálcio urinário.
- Determinar o conteúdo de cálcio nas amostras de fezes (mg/gfezes).
- Determinar a absorção aparente de cálcio.
- Analisar o conteúdo de cálcio no fêmur dos animais.
- Determinar a atividade da fosfatase alcalina óssea.
- Determinar o conteúdo de ferro nas amostras de fezes (mg/gfezes).
- Determinar a absorção aparente de ferro.
- Determinar hematócrito, hemoglobina, volume corpuscular médio e hemoglobina corpuscular média.
- Determinar o ferro sérico.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Animais para experimentação

Foram utilizados ratos da linhagem Wistar "S.P.F. – Specific Pathogen Free", albinos, machos, jovens, com peso médio de 100g, provenientes do Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica (CEMIB) da Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP.

4.2 Dietas experimentais

A ração oferecida para os animais até eles atingirem 250g foi a Nuvilab CR-1 (NUVITAL®) comercial, não purificada e de fórmula fechada.

Durante a fase experimental as dietas oferecidas foram elaboradas conforme o "American Institute of Nutrition" (REEVES; NIELSON; FAHEY JR, 1993), AIN-93M (Tabela 3), com concentração de proteína bruta de 12% (GOENA et al., 1989).

A caseína utilizada como fonte protéica foi da Plury Química Ltda, Diadema, São Paulo, lote: 90102, fabricada pela Naarden Agro Products-Holland. O amido de milho, proveniente da Corn Products Brasil, Amisol® 3408, lote: 3015357297; o amido dextrinizado da Corn products Brasil, MOR-REX® 1910, lote: 3015353114. A sacarose da refinaria União ® ; o óleo de soja da marca Liza®; a fibra celulose de Microal®, Microcrystalline Cellulose NF-9201, lote:029/05. A L-cistina Synth C1027.01.AE, lote: 85349; o Bitartarato de Colina marca Sigma® C1629; o Tertibutilhidroquinona marca Sigma® B9161; a mistura mineral e vitamínica (Tabela 3 e 4) foram provenientes de M. Cassab Comércio e Indústria Ltda, UFF 4220 e UFF 5788, respectivamente.

A polidextrose (POLI) foi gentilmente doada pela Danisco Brasil Ltda – Refined polydextrose powder FCC-104585-V58250P. O Galactooligossacarídeo (GOS) foi gentilmente doado pela Yakult Indústria e Comércio com 50-55% de oligossacarídeo, lote:YPSO705F, fabricado no Japão.

Tabela 3. Composição das dietas formuladas (g/kg) de acordo com a AIN-93M, (REEVES; NIELSON; FAHEY JR, 1993).

Ingredientes	Sem prebiótico*	Gos 5%**	Poli 5%***	Gos 2,5% + Poli 2,5%****
Amido	465,692	465,692	465,692	465,692
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	50,00	50,00	50,00
GOS	0,000	50,00	-	25,00
POLI	0,000	-	50,00	25,00
Mix mineral	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

* Sem adição de prebióticos

** Com galactooligossacarídeos (5%)

*** Com polidextrose (5%)

**** Com galactooligossacarídeo (2,5%) e polidextrose (2,5%)

Tabela 4. Composição da mistura mineral, adaptada de Reeves, Nielson e Fahey Jr (1993).

Ingredientes	g/kg
Carbonato de Cálcio	357,00
Fosfato Monopotássico Anidro	196,00
Citrato de Potássio	70,78
Cloreto de Sódio	74,00
Sulfato de Potássio Anidro	46,60
Oxido de Magnésio Anidro	24,00
Fluoreto de Sódio Anidro	0,06
Iodeto de Potássio	0,01
Fumarato Ferroso	3,03
Sulfato de Zinco Monohidratado	2,40
Sulfato de Manganês Monohidratado	0,93
Sulfato de Cobre Anidro	0,43
Selenito de Sódio	0,01
Molibdato de Sódio Dihidratado	0,01
Excipiente	QSP

Tabela 5. Composição da mistura vitamínica, adaptada de Reeves, Nielson e Fahey Jr (1993).

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 50% Acetato de Tocoferila	15,00
Vitamina A Palmitato 250.000UI/g	1,60
Vitamina D3 Pó 100.000UI/g	1,00
Fitomenadiona	0,075
Maltodextrina	QSP

4.3 Ensaio biológico

4.3.1 Condições experimentais

Os animais foram mantidos em caixas coletivas (Figura 8a), e gaiolas metabólicas (Figura 8b), com água desionizada e alimentação sob o sistema de livre acesso durante todo o experimento que foi realizado no Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental (NMCE), Faculdade de Ciências Médicas – UNICAMP. A temperatura e umidade relativa permaneceram em uma faixa de 22 ± 1ºC e 60-70%, respectivamente, e com ciclo claro/escuro de 12 horas iniciando às 7:00 hs.

(a) **(b)**

Figura 8. Caixas coletivas (a) e gaiola metabólica (b) de acordo com as condições experimentais/Laboratório de Enzimologia e Carcinogênese do Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental da Faculdade de Medicina da UNICAMP.

4.3.2 Delineamento experimental

Os ratos foram obtidos com aproximadamente 100g e mantidos sob dieta comercial no biotério do Laboratório de Enzimologia e Carcinogênese do Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental da Faculdade de Medicina da UNICAMP, até

atingirem o peso ideal para o procedimento cirúrgico (~ 250 g). Nessa fase, oito animais foram sacrificados para a realização das análises em tempo zero.

Tendo os ratos atingido o peso ideal para o procedimento cirúrgico, os mesmos foram submetidos à gastrectomia a BILLROTH II com Vagotomia Troncular Anterior. O grupo Sham (falso operado) foi submetido a um estresse cirúrgico semelhante, onde a cavidade abdominal foi mantida aberta por aproximadamente 45 minutos, tempo de duração do procedimento cirúrgico.

O experimento foi realizado dividindo-se os animais em oito subgrupos, de acordo com o delineamento experimental (Figura 9), respectivamente, em grupo G de animais gastrectomizados e grupo C, de animais controles (Sham). Cada subgrupo foi nomeado de acordo com a dieta administrada:

G 1: Dieta formulada sem prebiótico
G 2: Dieta formulada com Galactooligossacarídeos (5%)
G 3: Dieta formulada com Polidextrose (5%)
G 4: Dieta formulada com Galactooligossacarídeos (2,5%) + Polidextrose (2,5%)

C 1: Dieta formulada sem prebiótico
C 2: Dieta formulada com Galactooligossacarídeos (5%)
C 3: Dieta formulada com Polidextrose (5%)
C 4: Dieta formulada com Galactooligossacarídeos (2,5%) + Polidextrose (2,5%)

O protocolo do estudo foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP - protocolo nº 839-1 (Anexo 1), sendo o trabalho conduzido dentro dos padrões éticos internacionais que visam eliminar todo o sofrimento desnecessário ao ser vivo.

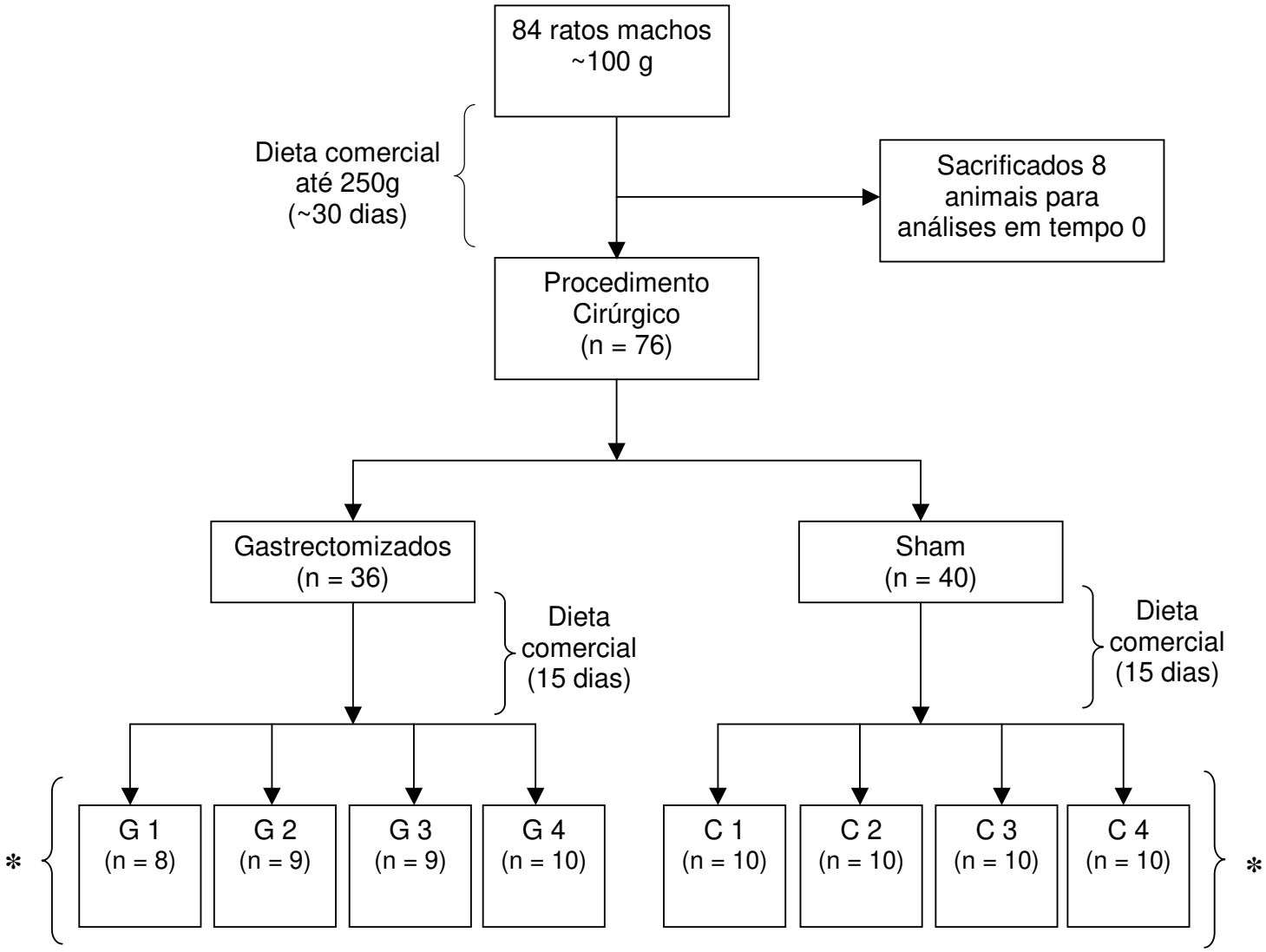


Figura 9. Esquema do delineamento experimental do ensaio biológico.

***** Dietas formuladas (67 dias). **G 1:** Dieta formulada sem prebiótico; **G 2:** Dieta formulada com Galactooligossacarídeos (5%); **G 3:** Dieta formulada com Polidextrose (5%); **G 4:** Dieta formulada com Galactooligossacarídeos (2,5%) + Polidextrose (2,5%); **C 1:** Dieta formulada sem prebiótico; **C 2:** Dieta formulada com Galactooligossacarídeos (5%); **C 3:** Dieta formulada com Polidextrose (5%); **C 4:** Dieta formulada com Galactooligossacarídeos (2,5%) + Polidextrose (2,5%).

4.3.3 Procedimento cirúrgico

O procedimento cirúrgico realizado obedeceu rigorosamente os princípios da técnica cirúrgica específica já padronizada, bem como a anatomia do animal (WAYNFORTH, 1980).

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 8 horas;

b) Foram anestesiados mediante injeção endovenosa de tiopental sódico (75mg/kg de peso), e em seguida foram colocados em decúbito dorsal sobre a prancha de cirurgia, ficando presos e imóveis à mesma, 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) Colocação de afastador autoestático infantil para ampla exposição da sua cavidade;

h) Procedimento cirúrgico: Gastrectomia a BILLROTH II com Vagotomia Troncular Anterior.

4.3.4 Gastrectomia a BILLROTH II com Vagotomia Troncular Anterior

O procedimento cirúrgico foi conduzido de acordo com a seqüência descrita a seguir:

a) Identificação do estômago do animal e da sua vascularização na pequena e grande curvatura. Isolamento dos vasos, pinçamento, secção e ligadura com fio de algodão nº 3-0;
b) Identificação dos vasos junto ao piloro e duodeno. Isolamento dos mesmos com cuidado para não lesar o parênquima pancreático próximo, e a seguir pinçamento, secção e ligadura com fio de algodão nº 3-0;
c) Colocação de pinças mosquito reto sobre o piloro e o estômago; a seguir ressecado com tesoura, a área correspondente ao antro do animal, completando assim a gastrectomia;
d) Fechamento do coto duodenal, utilizando fio algodão nº 3-0. Extração de excesso de parede esmagada pela pinça;
e) Identificação de primeira alça intestinal a cerca de 10cm do piloro;
f) Abertura da alça intestinal, de cerca de 1cm de extensão, no bordo contramesenterial, com auxílio de tesoura;
g) Realizada a gastroenteroanastomose término-lateral no sentido isoperistáltico da alça intestinal, utilizando fio de polipropileno nº 5-0, com sutura contínua e pontos extramucosos.
h) Identificação do nervo vago anterior junto ao esôfago e secção com tesoura, completando assim a Vagotomia Troncular Anterior.

4.3.5 Materiais

Os materiais utilizados no procedimento foram:
a) Raspagem dos pêlos: Máquina para tricotomia Oster® - Golden A5® - Professional Collection 78005-010;
b) Anestesia: utilizou-se como anestésico tiopental sódico (75mg/kg de peso) ABBOT (Lote 15-070-DK), sendo administrado através de injeção endovenosa;
c) Prancha de cirurgia com fixadores elásticos;
d) Materiais cirúrgicos: porta agulhas infantil, pinça anatômica e dente-de-rato delicadas, tesoura de Metzembaum delicada, tesoura reta, pinças mosquito curvas

e retas, bisturi nº 4 contendo lâmina nº 23 e afastador abdominal autoestático infantil;

e) Fio PROLENE 5-0 – Polipropileno azul - Não absorvível - 75cm - Agulha 1/2 - 17mm – Ethicon - Jonhson & Jonhson® - Produtos Profissionais Ltda - São José dos Campos - São Paulo - Brasil - Ref: 9556T; utilizado para as anastomoses gástricas, cedido pela Jonhson & Jonhson®- Produtos Profissionais Ltda - São José dos Campos - São Paulo – Brasil.

f) Fio POLYCOT 3-0 – Poliéster/algodão - Não absorvível - 45cm -Agulha1/2 - 26mm- Ethicon - Jonhson & Jonhson® - Produtos Profissionais Ltda- São José dos Campos- São Paulo- Brasil – Ref: P23T, utilizado para secção e ligadura de vasos e para o fechamento da parede abdominal do animal, gentilmente cedido pela Jonhson & Jonhson®- Produtos Profissionais Ltda- São José dos Campos- São Paulo- Brasil.

4.3.6 Cuidados pós-operatórios

Imediatamente após o término do procedimento cirúrgico os animais foram recolocados nas respectivas gaiolas, sendo permitido ingerir apenas água durante 24 horas; nas 12 horas seguintes receberam solução de cloreto de sódio (0,9%) e glicose (5%) “ad libitum” e depois tiveram livre acesso à ração (Ração Comercial Nuvital ®).

Quinze dias após o procedimento cirúrgico os animais passaram a receber a dieta formulada (Tabela 3), conforme protocolo estabelecido.

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

A pesagem da dieta e dos animais foi feita 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 monitoração do consumo de dieta, assim como a verificação do ganho de peso dos animais foi a cada dois dias. O consumo de ração das gaiolas metabólicas foi verificado por rato, considerando uma média no período de 3 dias (tempo de permanência dos animais nessa gaiola). Para a verificação do consumo das caixas coletivas foi realizado uma média de ingestão por caixa, considerando as perdas de ração dentro da caixa.

4.3.8 Suplementação de Vitamina B_{12} (Cianocobalamina)

Devido à gastrectomia, os ratos receberam suplementação de Vitamina B_{12}, para a prevenção da anemia megaloblástica (Figura 10). A administração foi por via intramuscular com Cianotrat 5000 - Delta® Registro: M.S. nº 1.0440.0016.003-5 (Lote: 1042), na concentração de (0,5mg/kg) a cada duas semanas, iniciando uma semana depois da cirurgia (OHTA et al., 1998b). No grupo Sham (falso operado) foi administrado cloreto de sódio 0,9%, Laboratório Sanobiol – Ltda (Lote: 06714).

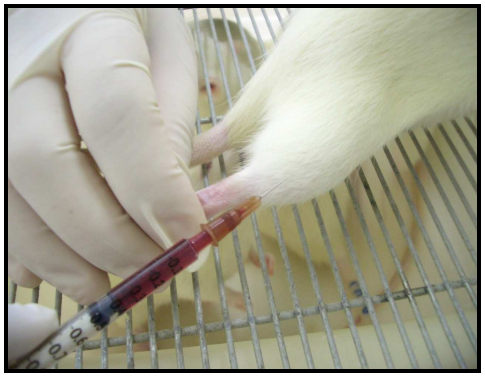
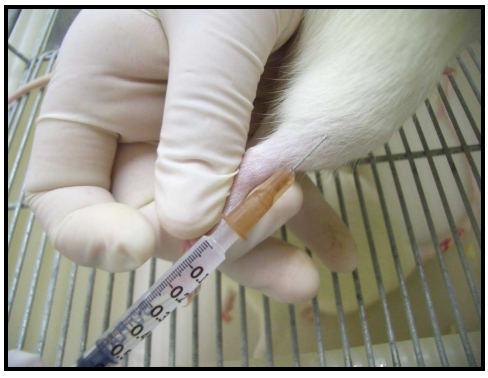
(a)   **(b)**

Figura 10. Administração de Vitamina B_{12} no grupo gastrectomizado (a) e solução fisiológica no grupo Sham (b).

4.4 Métodos analíticos

4.4.1 Composição centesimal da ração comercial e da dieta formulada

A composição centesimal da dieta foi realizada de acordo com as seguintes metodologias:

4.4.1.1 Nitrogênio total e proteína: determinado pelo método microkjeldahl, segundo método descrito na AOAC (1990). Fundamenta-se na digestão ácida da amostra em presença de catalisadores, formação de amônia, destilação em meio básico e titulação com solução padrão de ácido clorídrico.

Foi pesado, aproximadamente 0,1g da amostra em papel manteiga e posteriormente colocado num tubo de ensaio, em quadruplicata incluindo um "branco" sem amostra no papel manteiga. Adicionou-se 1g de mistura catalisadora (95% de K_2SO_4 e 5% de $CuSO_4$) e 4mL de H_2SO_4 concentrado; em seguida os tubos foram colocados no bloco digestor, iniciando a digestão com 50ºC, aumentando gradativamente a temperatura a cada 30min em 50ºC até atingir 350ºC, assim permanecendo por mais 4h até que o produto digerido ficasse translúcido. Após resfriarem, os tubos contendo a amostra foram colocados no aparelho de destilação, adicionando-se cerca de 15mL de solução de NaOH 50% para neutralização ao tubo contendo a amostra, até o aparecimento de precipitado pardo escuro de óxido de cobre e procedendo-se a destilação até atingir o volume de 100mL. O material destilado foi recebido em frasco Erlenmeyer de 250mL contendo 15mL de solução de ácido bórico (concentrado), 300µL de indicador de Andersen e titulado com solução de ácido clorídrico 0,02N padronizado.

A quantidade de proteína foi calculada multiplicando-se a quantidade de nitrogênio (calculada pelo teor de NH_3) encontrado na amostra, pelo fator 6,25. Esse fator não é fixo, é dependente do teor de nitrogênio presente em diferentes

proteínas. Nas proteínas o teor de nitrogênio varia entre 13-19%, sendo que o valor médio situa-se próximo de 16% (portanto, 100/16=6,25). Neste caso, foi utilizado o fator 6,25 por ser um fator de conversão geral já que a ração comercial e a dieta formulada não têm um fator de conversão pré-deteminado.

4.4.1.2 Lipídios totais: foram determinados por gravimetria, conforme método descrito por BLIGH DYER (1959), empregando-se como solventes: clorofórmio, metanol e água para extração dos lipídios.

Foi pesado 2,2g de amostra, transferido para um tubo de 70mL, adicionado 10mL de clorofórmio, 20mL de metanol e 8mL de água destilada. Logo depois, a mistura foi agitada em agitador rotativo de tubos Phoenix AP22 por 30min e adicionado 10mL de clorofórmio e 10mL de Na_2SO_4 1,5%; e em seguida agitado manualmente por 2min e foram deixados em repouso até separar as camadas naturalmente. A camada metanólica superior foi succionada e filtrada a camada inferior em papel de filtro quantitativo contendo 1g de Na_2SO_4 para o frasco Erlenmeyer.

Foi medido exatamente 5mL do filtrado e transferido para um béquer de 50mL previamente tarado e aquecido em estufa. O solvente foi evaporado em estufa a 100ºC, esfriado em dessecador e foi pesado.

4.4.1.3 Umidade e sólidos totais: foram determinados por gravimetria, de acordo com os procedimentos descrito na AOAC (1990). Cerca de 2 g de amostras foram pesadas em balança analítica (AL500, Marte®, São Paulo-Brasil) em placas de Petri previamente taradas. As amostras foram secas a 105 ºC por 12 horas em estufa (Modelo 315 SE, Fanem-SãoPaulo-Brasil), sendo os pesos determinados até peso constante. Os sólidos totais foram obtidos pela diferença entre o peso total da amostra e o conteúdo em umidade.

4.4.1.4 Resíduo mineral (cinzas): foram determinados por gravimetria, de acordo com os procedimentos descritos na AOAC (1990). Baseia-se na determinação do resíduo inorgânico que permanece depois da incineração da amostra a 500-550 ºC, com destruição da matéria orgânica.

Os cadinhos de porcelana foram aquecidos em mufla à 250ºC por 2h, posteriormente foram transferidos para o dessecador para atingir a temperatura ambiente; em seguida os cadinhos foram pesados em balança analítica sendo colocados 2g de amostra. As amostras foram carbonizadas na chama de um bico de Bunsen, até cessar o desprendimento de fumaça; os cadinhos contendo as amostras carbonizadas foram colocados novamente na mufla à 550ºC por aproximadamente 5h até obterem a coloração cinza clara; posteriormente os cadinhos foram retirados, colocados em dessecador por 30 min e pesados até o peso constante.

4.4.1.5 Carboidratos totais: estimados por diferença, subtraindo-se de 100% a soma dos valores obtidos para as determinações anteriores.

4.4.1.6 Cálcio e ferro: Foram determinados em laboratório especializado Biominerais Análises Químicas Ltda, Campinas - São Paulo. As amostras foram digeridas com HNO_3 65% (Merck) e H_2O_2 (Merck) em frascos fechado de Hostaflon, pressurizado, com aquecimento por microondas (DGT 100 Plus-Provecto). Após a digestão das amostras, a solução resultante foi transferida para os frascos volumétricos e o volume completado com água purificada, obtida por desionização pelo equipamento Milli-Q (Millipore).

As determinações de cálcio e ferro foram feitas em Espectrômetro de Emissão Ótica IRIS-AP (Thermo Jarrell Ash), utilizando-se para calibração do equipamento padrões de concentração conhecida (Merck).

4.4.2 Determinação de cálcio

Todo o material utilizado nas análises de dosagem de cálcio foi previamente limpo com detergente não iônico e posteriormente enxaguado três vezes com água desionizada, como indicado no kit utilizado para dosagem de cálcio sérico e urinário (Anexo 2).

4.4.2.1 Dieta

As determinações de cálcio na dieta foram realizadas em laboratório especializado Biominerais Análises Químicas Ltda, Campinas - São Paulo, seguindo a metodologia descrita no item 4.4.1.6.

4.4.2.2 Sérico

O sangue do animal foi coletado após o mesmo ter sido decapitado, centrifugado à 2600rpm/20 min em Centrífuga EXCELSA® Baby I - Modelo 206 - Fanem - São Paulo – Brasil para obtenção do soro. O conteúdo de cálcio sérico foi determinado por método colorimétrico disponível comercialmente (KIT LABORLAB) Registro: M.S. nº 10.246.810.027, Lote: 413, em espectrofotômetro Beckman DU® - 70 a 570 nm (Anexo 2).

4.4.2.3 Urinário

Para a coleta da urina os animais foram colocados em gaiolas metabólicas individuais (Figura 8 b). A coleta da urina foi realizada nos dias 15, 35 e 55 da fase experimental, durante três dias em cada período (CHONAN; WATANUKI, 1996).

O cálcio urinário foi determinado por método colorimétrico (KIT LABORLAB) Registro: M.S. nº 10.246.810.027, Lote: 413; em espectrofotômetro Beckman DU® - 70 a 570 nm (Anexo 2).

4.4.2.4 Fecal

Para a coleta das fezes os animais foram colocados em gaiolas metabólicas individuais (Figura 8 b). A coleta foi realizada nos dias 15, 35 e 55 da fase experimental, durante três dias cada período (CHONAN; WATANUKI, 1996).

As fezes foram colocadas em estufa Oolidef-CZ à 60ºC até peso constante. As determinações foram realizadas em laboratório especializado, Biominerais Análises Químicas Ltda, Campinas - São Paulo, seguindo a metodologia descrita no item 4.4.1.6.

4.4.2.5 Absorção aparente

A absorção aparente do cálcio foi determinada pela seguinte equação (CHONAN; MATSUMOTO; WATANUKI, 1995).

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

Para o cálculo da ingestão foi considerado uma média do consumo das gaiolas coletivas e das gaiolas metabólicas.

4.4.2.6 Determinações ósseas

O fêmur foi retirado após o sacrifício dos animais, limpo e congelado. Posteriormente, os ossos foram carbonizados em bico de Bunsen e em seguida, calcinados em mufla à 600ºC até cinzas claras (aproximadamente 12 h). E as determinações foram realizadas em laboratório especializado.

4.4.2.7 Determinação cinética da atividade da fosfatase alcalina óssea (termolábil)

O sangue do animal foi coletado após o mesmo ter sido decapitado, centrifugado à 2600rpm/20 min em Centrífuga EXCELSA® Baby I - Modelo 206 - Fanem - São Paulo – Brasil para obtenção do soro.

A atividade da enzima fosfatase alcalina óssea (termolábil) foi determinada através de um kit colorimétrico cinético disponível comercialmente (LABORLAB) Registro: M.S. nº 10.246.810.003, Lote: 425 (Anexo 3), a 450nm em espectofotômetro Beckman DU® - 70 com controle de temperatura.

A metodologia utilizada foi um substrato de para-nitrofenil-fosfato e tampão aminometil-propanol (AMP) na determinação cinética da sua atividade, sendo que a reação que ocorre entre o p-nitrofenil-fosfato, p-nitrofenol e fosfato é medida pela fosfatase alcalina. Além disso, a velocidade de aumento na concentração de p-nitrofenol no meio de reação é também proporcional à atividade da fosfatase alcalina na amostra.

p-nitrofenil-fosfato $\xrightarrow[\text{Fosfatase alcalina}]{}$ nitrofenol +fosfato

Para a determinação da fosfatase alcalina termolábil, primeiramente foi determinado a fosfatase alcalina total por método colorimétrico a 405nm. A fração termolábil (fração óssea) foi determinada pelo método de inativação (56ºC por 15 min.), obtendo-se o resultado final por diferença. Para inativação foi utilizado Banho Maria Dubnoff Tecnal Modelo TE-053 - Tecnal®.

4.4.3 Determinação de ferro

Todos os utensílios, materiais e vidrarias utilizados para análise deste mineral foram tratados ou imersos em solução de ácido nítrico 10% e

posteriormente lavados cinco vezes com água desionizada, com o objetivo de minimizar a contaminação com ferro.

4.4.3.1 Dieta

As determinações de ferro na dieta foram realizadas em laboratório especializado, Biominerais Análises Químicas Ltda, Campinas - São Paulo seguindo a metodologia descrita no item 4.4.1.6.

4.4.3.2 Ferro fecal

Para a coleta das fezes os animais foram colocados em gaiolas metabólicas individuais (Figura 8 b). A coleta das fezes foi realizada nos dias 15, 35 e 55 da fase experimental, durante três dias cada período (CHONAN; WATANUKI, 1996).

As fezes foram colocadas em estufa Oolidef-CZ à 60ºC até peso constante. As determinações foram realizadas em laboratório especializado, como descrito no item anterior 4.4.1.6.

4.4.3.3 Absorção aparente

A absorção aparente do ferro foi determinada segundo Shiga e colaboradores (2003), pela seguinte equação:

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

Para o cálculo da ingestão foi considerado a média do consumo das gaiolas coletivas e das gaiolas metabólicas.

4.4.3.4 Hematócrito, hemoglobina, volume corpuscular médio e hemoglobina corpuscular média

O sangue do animal foi coletado com tubo capilar Heparinizado – Perfecta® (Indústria e Comércio de Lâminas de Vidro Ltda São Paulo, SP – Brasil), após o mesmo ter sido anestesiado, pela via retro-ocular. Foi utilizado Microtubo para Hematologia com EDTA-K3, Mini Collect®, volume 0,5mL, tamanho 11 x 40mm, da Greiner Bio-one - Brasil - Lote 051003 CE: M-2095.

As amostras de sangue foram coletadas em 3 tempos:
- Tempo 0: corresponde as amostras coletadas no momento pré-operatório;
- Tempo 1: após 1 mês em dieta experimental;
- Tempo 2: após 2 meses em dieta experimental.

A análise de hematócrito e hemoglobina foi realizada em analisador hematológico Advia ™ 120 - Bayer® (Irlanda).

4.4.3.5 Ferro sérico

O sangue do animal foi coletado após o mesmo ter sido decapitado, centrifugado à 2600rpm/20 min em centrífuga EXCELSA® Baby I - Modelo 206 - Fanem - São Paulo - Brasil para obtenção do soro.

O conteúdo de ferro sérico foi determinado por método colorimétrico disponível comercialmente (KIT LABORLAB) Registro: M.S. nº 10.246.810.020, (Lote 421), em espectrofotômetro Beckman DU® - 70 a 560nm (Anexo 4).

4.5 Análises estatísticas

Os resultados foram submetidos à análise de variância ANOVA, sendo utilizado o teste de Duncan's para o confronto das médias. O software utilizado STATISTICA 6.0® *for windows* (STATSOFT, 2000), considerando 5% como probabilidade mínima aceitável para diferença entre as médias.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Composição centesimal da dieta comercial

A dieta comercial foi utilizada no início do experimento durante aproximadamente 30 dias, até os animais completarem 250g. A composição centesimal da dieta e as especificações do fabricante estão expressas na Tabela 6, respectivamente.

Tabela 6. 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).

5.2 Composição centesimal das dietas experimentais

Os resultados da determinação da composição centesimal das dietas experimentais estão expressos na Tabela 7. As composições centesimais das dietas utilizadas durante o período experimental não apresentaram diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$), sendo consideradas isoenergéticas e isoprotéicas.

Tabela 7. Composição centesimal (g/100g), cálcio (mg/g), ferro (mg/g) e valor energético (kcal/100g) das dietas experimentais formuladas de acordo com a AIN-93M (REEVES; NIELSON; FAHEY JR, 1993).

Componente químico	Sem adição prebiótico	Gos (5 %)	Poli (5 %)	Gos (2,5%) e Poli (2,5%)
Sólidos totais	92,7±0,3	91,6±0,2	92,1±0,2	92,2±0,1
Umidade	7,3±0,2	8,4±0,2	7,8±0,2	7,8±0,1
Lípides totais	4,1±0,1	3,7±0,1	3,7±0,2	3,9±0,2
Cinzas	2,7±0,1	2,5±0,1	2,5±0,1	2,1±0,1
Proteínas	11,4±0,2	11,3±0,2	11,4±0,1	11,4±0,1
Carboidratos *	74,5	74,0	74,5	74,8
Cálcio	6,0	6,0	5,9	5,8
Ferro	0,1	0,1	0,1	0,1
Valor energético **	380,6	374,7	376,8	379,7

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

5.3 Ensaio biológico

O animal escolhido para este estudo foi o rato, devido às suas características biológicas e seu metabolismo aumentado em relação ao homem. Assim, pode ser considerada uma análise tardia em relação ao processo carencial do mineral cálcio e ferro, em um tempo menor de observação.

Donaldson (1924) e Peckham (1979) afirmaram existir uma correspondência de 30 dias de vida do homem para cada dia de vida do rato, deste modo, em nossos ensaios, uma observação de 67 dias, corresponderiam a 2010 dias (5.5 anos) no homem. Outros autores como Gittes (1986); Klee et al., (1990); Iandoli Jr (2000) realizaram trabalhos experimentais em ratos também considerando como verdadeira esta correlação. Lambert (1965) chama a atenção desta e de outras características que fazem do rato um bom modelo experimental para estudos em cirurgia do aparelho digestório.

5.3.1 Monitoramento do peso dos animais

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

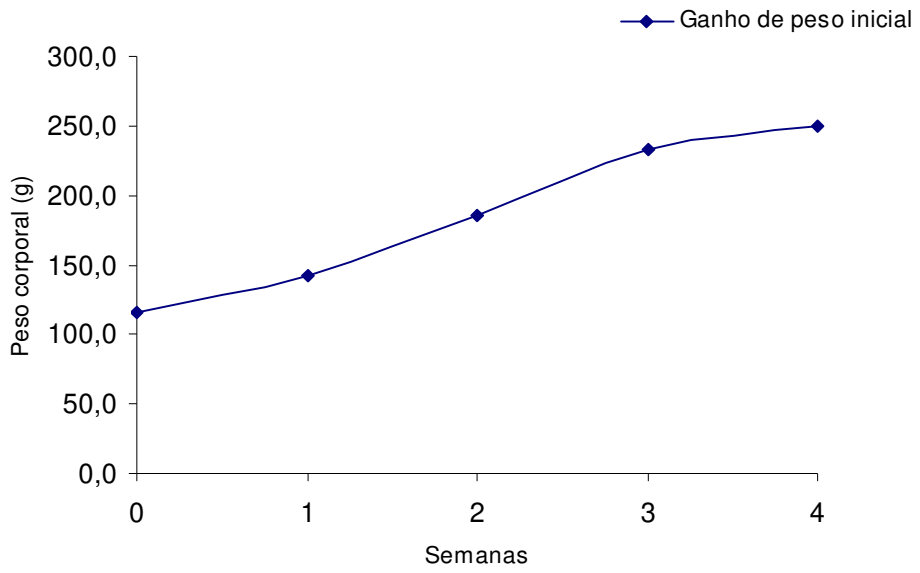


Figura 11. Evolução ponderal (g) dos no estágio inicial (antes do procedimento cirúrgico) alimentados com dieta comercial.

5.3.2 Consumo de dieta e ganho de peso dos animais

Na Tabela 8, estão expressos em valores médios os consumos de dieta (g) por grupo, o ganho de peso dos ratos (g) e a eficiência alimentar, respectivamente, durante os 60 dias de experimento.

Nos animais do grupo Sham o tratamento Poli e Gos 2,5% foi o único que apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) em relação à eficiência alimentar. A eficiência alimentar dos animais do grupo Operado foi menor do que a dos animais do grupo Sham, exceto no tratamento Poli e Gos 2,5%. Esse fato pode ser conseqüência da retirada de uma porção do estômago e ausência do duodeno no trânsito, pois após a gastrectomia a capacidade gástrica é reduzida, o trânsito intestinal se torna mais rápido e há uma diminuição do sítio de absorção dos nutrientes (ZITTEL et al., 1997).

Tabela 8. Valores médios ± erro padrão da média (EPM) do consumo de dieta (g), ganho de peso e eficiência alimentar dos grupos experimentais do ensaio biológico efetuado com ratos, durante 60 dias.

Grupos	Consumo (g)	Ganho de peso (g)	Eficiência Alimentar
Sham			
Sem Preb (n=10)	$1170,0 \pm 29,6^{b}$	$157,1 \pm 9,0^{a}$	$0,134 \pm 0,01^{a}$
Gos 5% (n=10)	$1164,0 \pm 31,7^{b}$	$152,1 \pm 6,9^{a}$	$0,130 \pm 0,01^{a}$
Poli 5% (n=10)	$1122,0 \pm 27,1^{b}$	$146,5 \pm 8,6^{a}$	$0,130 \pm 0,01^{a}$
Poli e Gos 2,5% (n=10)	$1292,0 \pm 41,9^{a}$	$143,8 \pm 7,6^{a}$	$0,111 \pm 0,01^{b}$
Operados			
Sem Preb (n=8)	$1198,0 \pm 8,7^{A}$	$153,1 \pm 6,6^{AB}$	$0,127 \pm 0,00^{B}$
Gos 5% (n=9)	$1236,0 \pm 38,6^{A}$	$145,0 \pm 9,8^{AB}$	$0,117 \pm 0,01^{C*}$
Poli 5% (n=9)	$1176,0 \pm 38,6^{A}$	$134,6 \pm 5,6^{B}$	$0,114 \pm 0,01^{C*}$
Poli e Gos 2,5% (n=10)	$1186,0 \pm 19,7^{A}$	$162,4 \pm 9,1^{A}$	$0,137 \pm 0,00^{A*}$

Letras minúsculas significam comparação entre o grupo Sham e letras maiúsculas significam comparação entre o grupo Operado. Letras idênticas no mesmo grupo indicam ausência de diferença significativa ao teste de Duncan ($p > 0,05$). Letras diferentes no mesmo grupo indicam diferença significativa ao teste de Duncan ($p < 0,05$). * Diferença significativa entre o mesmo tratamento no grupo Sham *versus* Operado segundo teste de Duncan ($p < 0,05$).

5.3.2.1 Consumo de dieta durante a fase experimental

Durante a fase experimental, os animais do grupo Sham não apresentaram consumo diário de dieta estatisticamente diferente. Por outro lado, entre os

animais do grupo Operado houve diferença estatisticamente significativa (p<0,05), conforme apresentado na Figura 12.

É possível observar também que ao comparar os grupos Sham e Operado, os tratamentos do grupo Operado apresentaram estatisticamente menores em relação aos tratamentos do Sham, exceto o tratamento Poli 5% que foi o único que não apresentou diferença significativa (p>0,05). Esse menor consumo percebido no grupo Operado pode estar associado à retirada de uma porção do estômago, o que proporciona uma capacidade gástrica menor.

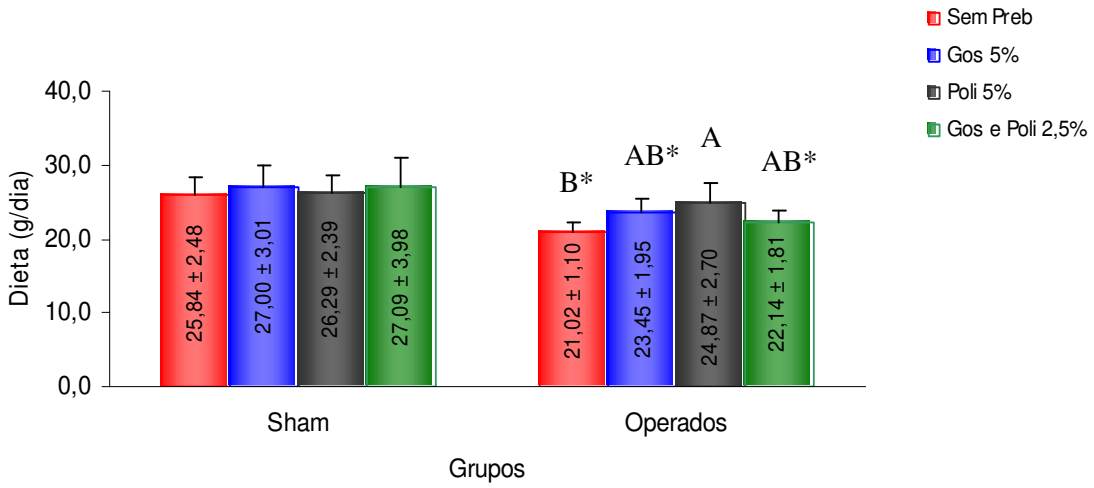


Figura 12. Consumo médio de dieta (g /dia) durante o ensaio biológico.

Letras maiúsculas significam comparação entre o grupo Operado. Letras diferentes no mesmo grupo indicam diferença significativa ao teste de Duncan (p<0,05). * Diferença significativa entre o mesmo tratamento no grupo Sham *versus* Operado segundo teste de Duncan (p<0,05).

5.3.2.2 Ganho de peso dos animais durante a fase experimental

Na Figura 13, estão apresentados o ganho de peso (g) dos animais durante as oito semanas da fase experimental. Observa-se que o ganho de peso se manteve constante em todos os grupos, não apresentando diferença estatística significativa pelo teste de Duncan (p<0,05).

Mesmo não apresentando diferença estatística percebeu-se que os animais do grupo Operado apresentaram tendência em se manterem com peso menor que os animais do grupo Sham. Os resultados obtidos e apresentados na Figura 13 corroboram com as afirmações de Ohta e colaboradores (1998a,b) que também estudaram ratos com gastrectomia parcial.

Esse menor ganho de peso dos ratos gastrectomizados pode ser associado ao menor consumo de dieta (Figura 12). Hara, Suzuki e Aoyama (2000) estudando ratos com gastrectomia total sugeriram que após esse procedimento ocorrem algumas mudanças metabólicas que prejudicam a absorção de nutrientes, o que promovem e retardam o crescimento nos ratos gastrectomizados.

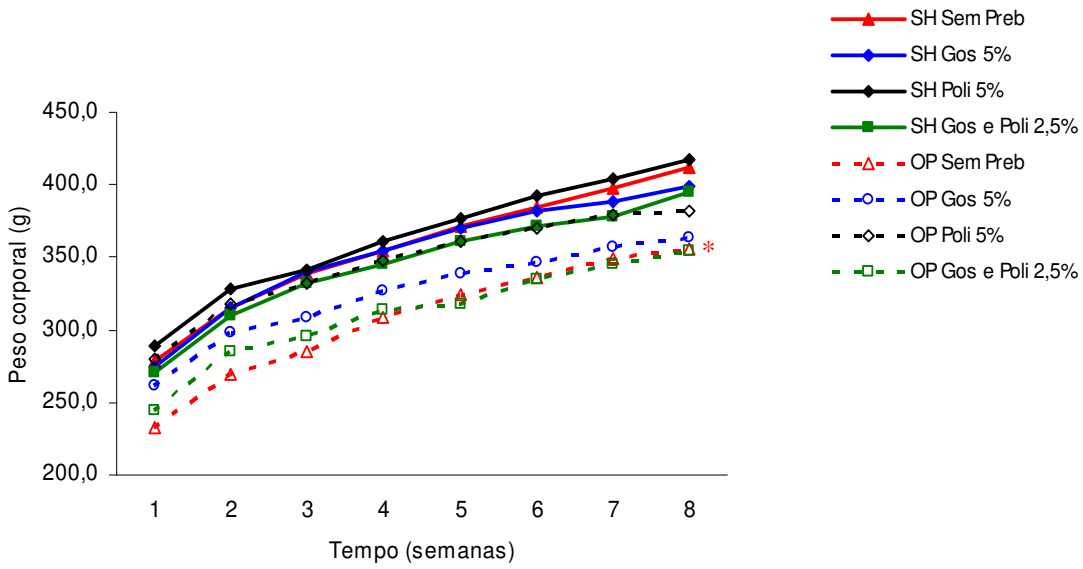


Figura 13. Evolução ponderal (g) dos animais durante todo o período experimental.

* Diferença significativa entre o mesmo tratamento no grupo Sham *versus* Operado segundo teste de Duncan ($p<0,05$).

5.4 Cálcio sérico

O controle homeostático do cálcio envolve os processos de absorção, excreção, secreção e armazenamento no osso, para manter a concentração do cálcio ionizado no plasma dentro de uma escala (2,1 - 2,3mM) (CASHMAN, 2002), onde o paratormônio (PTH) é o principal regulador, estimulando a transferência de cálcio do osso para o sangue, promovendo a reabsorção tubular renal de cálcio e estimulando indiretamente sua absorção intestinal através da forma hormonal de vitamina D-1,25$(OH)_2D_3$ (WEAVER; HEANEY, 2003).

Na Figura 14 estão apresentadas as concentrações médias de cálcio sérico (mg/dL) após 60 dias de experimentação, dos animais dos grupos Sham e Operado. Os níveis de cálcio sérico do grupo Sham foram estatisticamente diferentes ($p<0,05$) dos animais do grupo Operado, sugerindo que a gastrectomia diminuiu significativamente (16%) os níveis séricos de cálcio.

Resultados similares foram apresentados por Axelson e colaboradores (1991) quando ratos gastrectomizados apresentaram hipocalcemia. Os mesmos autores mencionaram a ocorrência de processo similar em humanos, afirmando que a hipocalcemia induzida pela gastrectomia seria uma deficiência progressiva de cálcio. Outro aspecto colocado é que a mucosa do estômago parece abrigar um agente calciotrópico, a gastrocalcina, liberada em resposta a gastrina e a ingestão alimentar. A gastrocalcina parece estimular a captação de cálcio sérico para o osso, causando uma hipocalcemia como conseqüência. No entanto, até o momento não há explicação para o paradoxo (AXELSON, et al., 1991). Sakai e colaboradores (2001) também encontraram em ratos gastrectomizados uma menor concentração de cálcio sérico em relação ao grupo controle.

Zittel e colaboradores (1997) em estudos com humanos com ressecção gástrica parcial e gastrectomia total, notaram também uma menor concentração de cálcio sérico. Os autores sugerem várias razões para esse fato, como a

liberação diminuída de cálcio dos alimentos devido à má digestão, ao trânsito intestinal rápido que permite menor tempo de absorção, além da exclusão do duodeno e jejuno superior devido à reconstrução cirúrgica. O efeito combinado desses vários fatores prejudica a absorção de cálcio, resultando em um equilíbrio de cálcio negativo e uma menor concentração de cálcio sérico depois da gastrectomia.

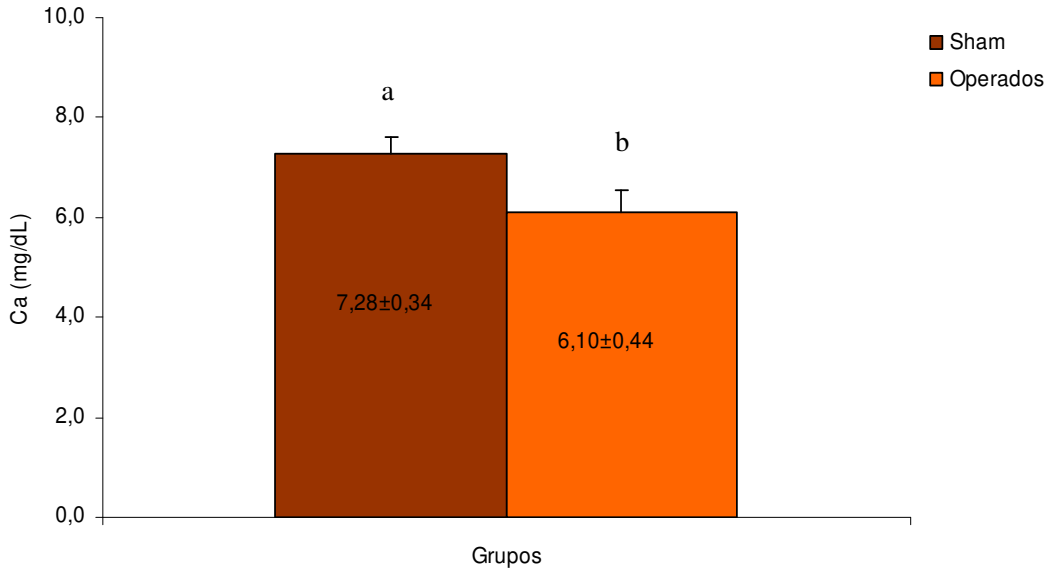


Figura 14. Concentrações médias ± EPM de cálcio sérico (mg/dL) após 60 dias de experimentação dos grupos Sham e Operados.

Letras diferentes indicam diferença significativa ao teste de Duncan ($p<0,05$).

5.5 Cálcio urinário

A dosagem de cálcio em urina de 24h é utilizada para avaliação da excreção renal de cálcio (SARAIVA; LAZARETTI-CASTRO, 2002). A excreção urinária de cálcio é de grande importância no diagnóstico e no seguimento de

inúmeras doenças ósteo-metabólicas. Assim, a excreção de 24h reflete o equilíbrio entre a absorção do cálcio da dieta e a perda ou ganho do esqueleto (VIEIRA, 2005).

Na Figura 15, estão apresentadas as concentrações médias de cálcio urinário dos animais do grupo Sham e do grupo Operado. A excreção de cálcio urinário no grupo Operado foi estatisticamente menor (31%). Este fenômeno também foi verificado por Axelson e colaboradores (1991), porém, em uma menor amplitude (20%).

Os níveis baixos de cálcio urinário verificados podem ser devido a uma maior reabsorção tubular renal, com o intuito de regular o cálcio sérico. Quando a concentração de cálcio sérico diminui, o nível de PTH aumenta promovendo a sua reabsorção tubular renal e estimulando indiretamente a absorção intestinal, através da forma hormonal de vitamina D-1,25$(OH)_2D_3$. Morohashi e colaboradores (2002) observaram em ratos gastrectomizados um aumento estatisticamente elevado do PTH. Resultados similares foram encontrados por Zittel e colaboradores (1997) em humanos. Assim, é posível que tenha ocorrido um aumento nas concentrações de PTH sérico (não determinado neste estudo) que justificaria estes resultados.

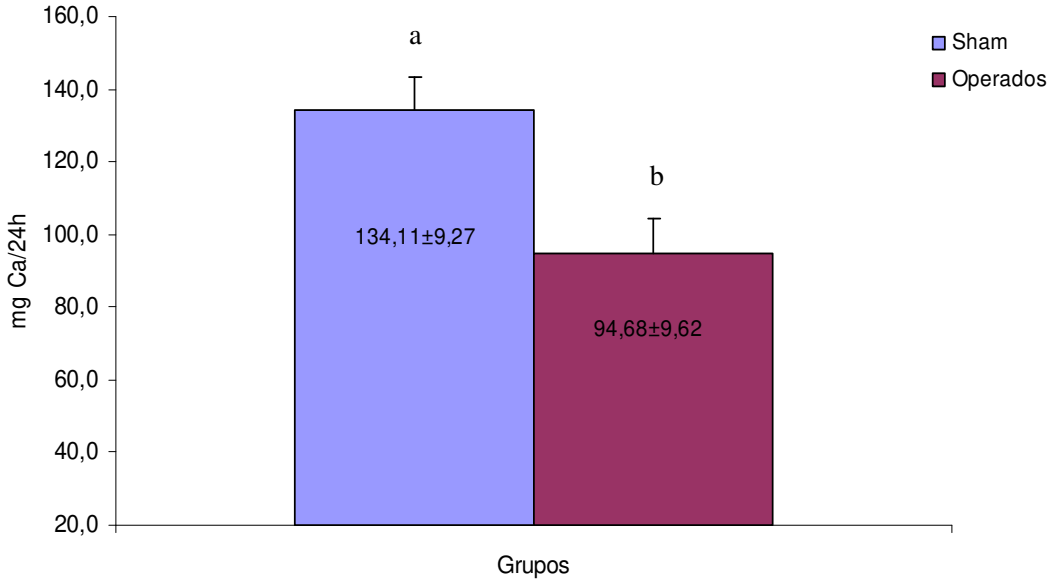


Figura 15. Concentrações médias ± EPM de cálcio urinário (mg/24h) dos grupos Sham e Operados.

Letras diferentes no mesmo grupo indicam diferença significativa ao teste de Duncan ($p<0,05$).

5.6 Cálcio fecal / absorção aparente de cálcio

A absorção intestinal de cálcio é o resultado de dois processos, transporte ativo transcelular, principalmente no duodeno e porção superior do jejuno, e difusão passiva paracelular, que ocorre por todo intestino delgado, principalmente no íleo e muito pouco no intestino grosso (5%) (PANSU; BRONNER, 1999).

Na Figura 16, estão representadas as concentrações médias de cálcio fecal dos animais dos grupos Sham e Operado. O tratamento sem prebiótico foi o único que apresentou diferença estatística no grupo Sham, sugerindo que a dieta sem prebiótico de fato não aumenta a absorção, levando a uma excreção aumentada

de cálcio nas fezes, o que seria esperado. Os demais tratamentos dos animais do grupo Sham e Operado não apresentaram diferenças estatísticas entre eles. Assim, a gastrectomia aparentemente não altera significativamente a absorção aparente do cálcio.

Os resultados apresentados nesta pesquisa estão em acordo com outras pesquisas realizados anteriormente, constatando que a administração de prebióticos diminui a excreção de cálcio pelas fezes (CHONAN; WATANUKI, 1996; CHONAN; WATANUKI, 1995). Cardoso Netto (2005), por exemplo, demonstrou em ratas ovariectomizadas suplementadas ou não com fructooligossacarídeos (FOS) que o consumo desse prebiótico diminuiu a excreção de cálcio nas fezes.

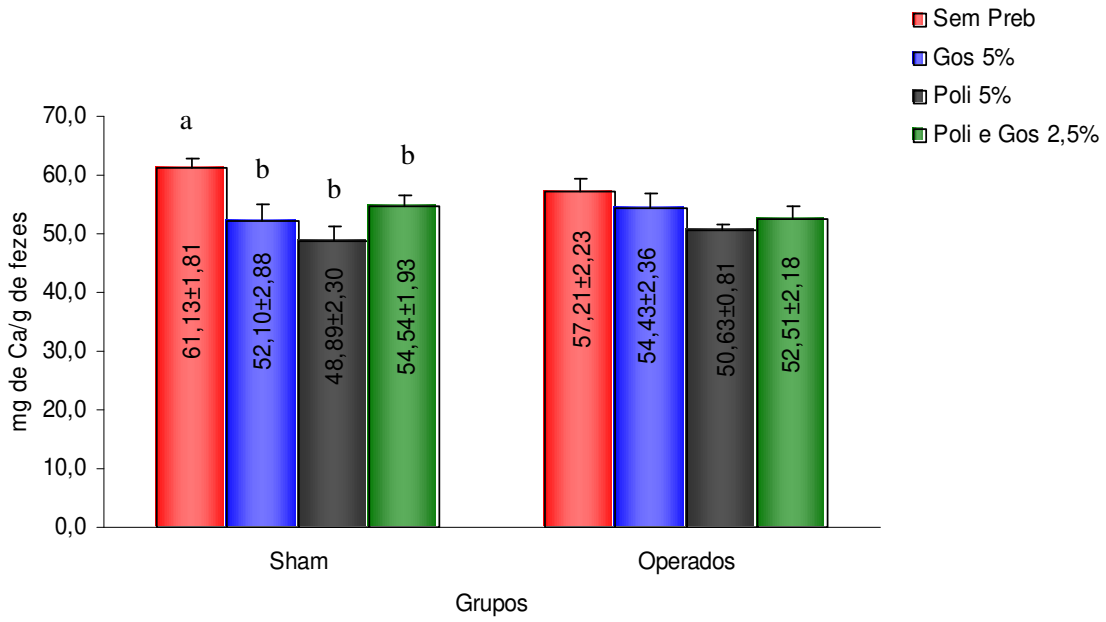


Figura 16. Concentrações médias ± EPM de cálcio fecal (mg/g fezes) dos grupos Sham e Operado.

Letras minúsculas significam comparação entre o grupo Sham. Letras diferentes no mesmo grupo indicam diferença significativa ao teste de Duncan ($p<0,05$).

A Figura 17, apresenta os resultados de absorção aparente de cálcio dos animais dos grupos Sham e Operado. Verificaram-se menores valores nos tratamentos do grupo Operado em relação ao Sham, estatisticamente diferentes ($p<0,05$).

No grupo Sham os animais que receberam o tratamento Gos 5% e a Poli 5% apresentaram valores maiores de absorção aparente, do que os demais tratamentos do grupo Sham e Operados, estatisticamente significativos ($p<0,05$).

Embora a absorção de cálcio ocorra principalmente na parte proximal do intestino, normalmente todas as porções intestinais apresentam capacidade de absorver esse mineral, inclusive o cólon, que capta cerca de 4% do cálcio ingerido (ALLEN, 1982). Os resultados apresentados nesta pesquisa sugerem que a fermentação bacteriana das substâncias prebióticos no intestino pode ter sido um importante fator favorável para a absorção de cálcio no cólon.

Devido a essa capacidade de favorecer a absorção de cálcio, o consumo diário de oligossacarídeos não digeríveis na dieta deveria ser estimulado, principalmente por indivíduos suscetíveis à deficiência deste mineral (COXAM, 2005).

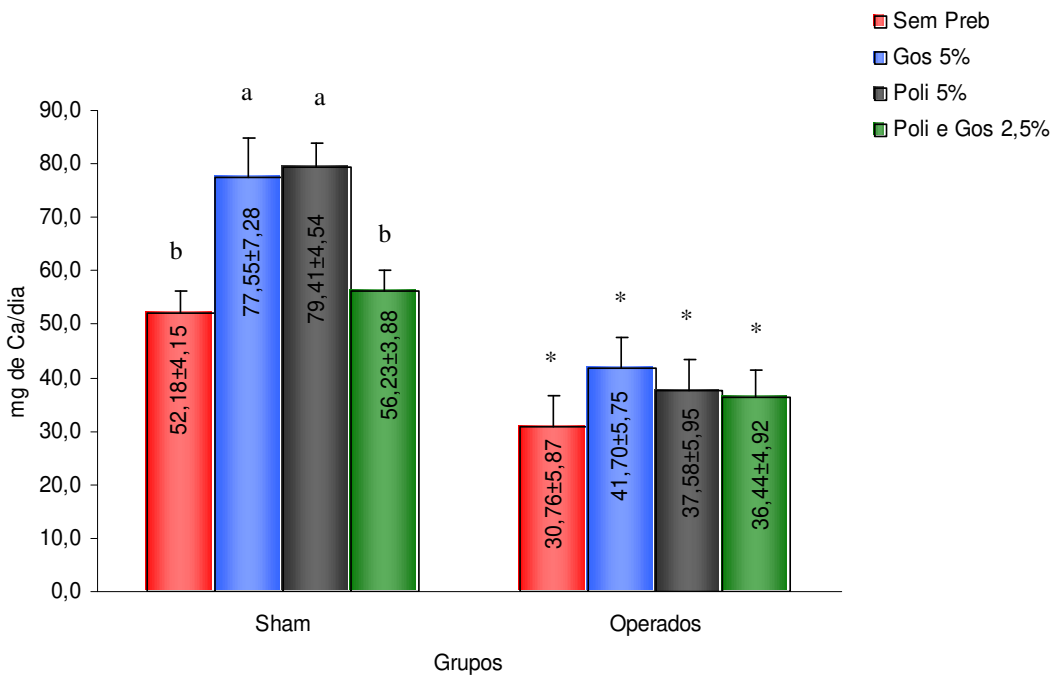


Figura 17. Absorção aparente do cálcio (mg/dia) ± EPM dos grupos Sham e Operado.

Letras minúsculas significam comparação entre o grupo Sham. Letras diferentes no mesmo grupo indicam diferença significativa ao teste de Duncan's ($p<0,05$). * Diferença significativa entre o mesmo tratamento no grupo Sham *versus* Operado segundo teste de Duncan's ($p<0,05$).

5.7 Cálcio ósseo

O sistema esquelético desempenha um papel imprescindível na homeostase de cálcio através da remodelação esquelética, participando do processo de manutenção da concentração sangüínea ionizada deste mineral (CASHMAN, 2002). Essa remodelação se faz através de hormônios sistêmicos, bem como por algumas citocinas (LANNA; MONTENEGRO; PAULA, 2003).

Nos animais do grupo Sham, o tratamento sem prebiótico não aumentou a concentração de cálcio ósseo (Figura 18) estatísticamente ($p>0,05$) em relação

aos demais tratamentos do mesmo grupo. E também, este grupo foi o que apresentou inversamente maior excreção de cálcio fecal (Figura 16).

Os tratamentos dos animais do grupo Sham e Operado não apresentaram diferenças estatísticas entre eles, exceto no tratamento sem prebiótico. Este fato mostra que os tratamentos com prebióticos isolados ou associados foram eficazes no processo de manutenção de cálcio ósseo e conseqüentemente da saúde deste tecido (Figura 18).

Este fato pode ser reafirmado através dos resultados obtidos por Cardoso Netto, (2005) onde a administração do prebiótico fructooligossacarídeo (FOS) associado à reposição hormonal, bem como a administração de FOS isoladamente foram eficazes no processo de mineralização óssea. Sugerindo que os tratamentos isolados sejam eficazes nos processos de manutenção do cálcio, enquanto os dois tratamentos associados seriam mais eficazes na recuperação óssea propriamente dita.

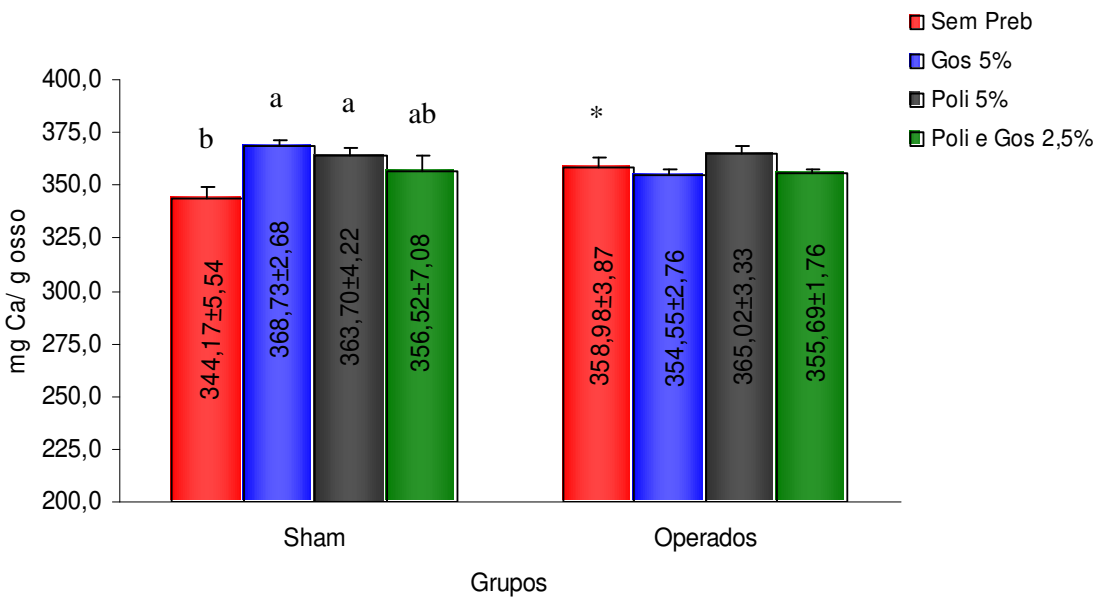


Figura 18. Concentrações médias ± EPM de cálcio ósseo (mg/g de osso) dos grupos Sham e Operado.

Letras minúsculas significam comparação entre o grupo Sham. Letras diferentes no mesmo grupo indicam diferença significativa ao teste de Duncan ($p<0,05$). * Diferença significativa entre o mesmo tratamento no grupo Sham *versus* Operado segundo teste de Duncan ($p<0,05$).

5.8 Determinação cinética da atividade da fosfatase alcalina termolábil (FAT) sérica

Os marcadores bioquímicos do metabolismo ósseo podem ser definidos como substâncias que retratam a formação ou a reabsorção óssea. Durante a formação do osso, a produção da matriz colágena precede a mineralização e a fase de produção de matriz colágena coincide com uma maior produção de fosfatase alcalina, sendo dependente da ação dos osteoblastos (SARAIVA; LAZARETTI-CASTRO, 2002).

A atividade da fosfatase alcalina está presente em vários tecidos, incluindo o fígado, ossos, rins, intestino e placenta. Em condições normais, as duas formas predominantes em circulação (> 90% do total) são a fração óssea e a hepática, em quantidades equivalentes. A outra forma circulante, em concentrações significativas, é a forma intestinal, que representa menos de 5% do total. A fosfatase alcalina total é medida através de sua atividade e corresponde à soma das diversas isoformas presentes no soro (SARAIVA; LAZARETTI-CASTRO, 2002).

Durante muitas décadas, a medida da atividade total de fosfatase alcalina foi à base do estudo de doenças tanto ósseas como hepáticas, partindo-se do pressuposto que o aumento da atividade total seria devido à isoenzima específica da doença. Em linhas gerais este raciocínio é válido, com o inconveniente óbvio da perda de sensibilidade e especificidade que esta condição acarreta. Assim, inúmeros métodos foram descritos com o intuito de separar a atividade das duas isoenzimas, sendo a inativação térmica um dos mais empregados (FLEURY, 2005).

Quando se busca maior sensibilidade e especificidade, a fosfatase alcalina óssea é mais indicada, e por este motivo essa isoenzima foi analisada.

Um aspecto relativo ao uso e interpretação dos valores de fosfatase alcalina óssea é o fato de que eles não aumentam exclusivamente com o aumento da formação óssea, mas também na osteomalácia ou outras condições em que o metabolismo ósseo esteja alterado (VIEIRA, 2005).

Na Figura 19 estão expressos os resultados em médias ± EPM da atividade da fosfatase alcalina óssea (termolábil) dos animais do grupo Sham e Operado nos diferentes tratamentos. Os animais do grupo Sham não apresentaram diferença estatística ($p>0,05$) nos valores, indicando que os tratamentos

administrados de forma isolada ou em conjunto foram eficazes na manutenção do metabolismo ósseo em ratos não Operados.

Nos animais do grupo operado, o tratamento com Poli 5% apresentou resultados mais baixos (27,5%) estatisticamente significativos do que os demais tratamentos, sugerindo um aumento no metabolismo ósseo, onde provavelmente ocorreu um aumento no processo de calcificação. Essa hipótese também pode ser confirmada pela observação dos valores obtidos de cálcio ósseo (Figura 18) onde os animais do grupo operado que recebeu o tratamento Poli 5% apresentaram valores numéricos ligeiramente superiores.

Zittel e colaboradores (1997) demonstraram em estudos com humanos, que a atividade da fosfatase alcalina óssea específica somente apresentou alterações em casos de gastrectomia total. As ressecções gástricas parciais, B I ou II, não apresentaram alterações na atividade dessa enzima, quando comparadas com um grupo controle.

De acordo com esses resultados pode-se observar que a ressecção gástrica parcial não afetou intensamente o metabolismo de cálcio, sugerindo que esse protocolo não seja um modelo de depleção de cálcio. Isso pode ser explicado pelo fato do cálcio ser um macromineral e para que ocorra alteração em nível ósseo há necessidade de um processo intenso de depleção. Isso pode ser confirmado pelo estudo de Cardoso Netto (2005) utilizando a ovariectomia como modelo experimental, onde as ratas ficaram vulneráveis à má absorção de cálcio, causando uma depleção de cálcio ósseo.

Outro fato que vale ser destacado é o tempo de estudo experimental (60 dias), o que equivale em humanos um pouco mais de 5 (cinco) anos. Este período pode ser curto para uma depleção de cálcio.

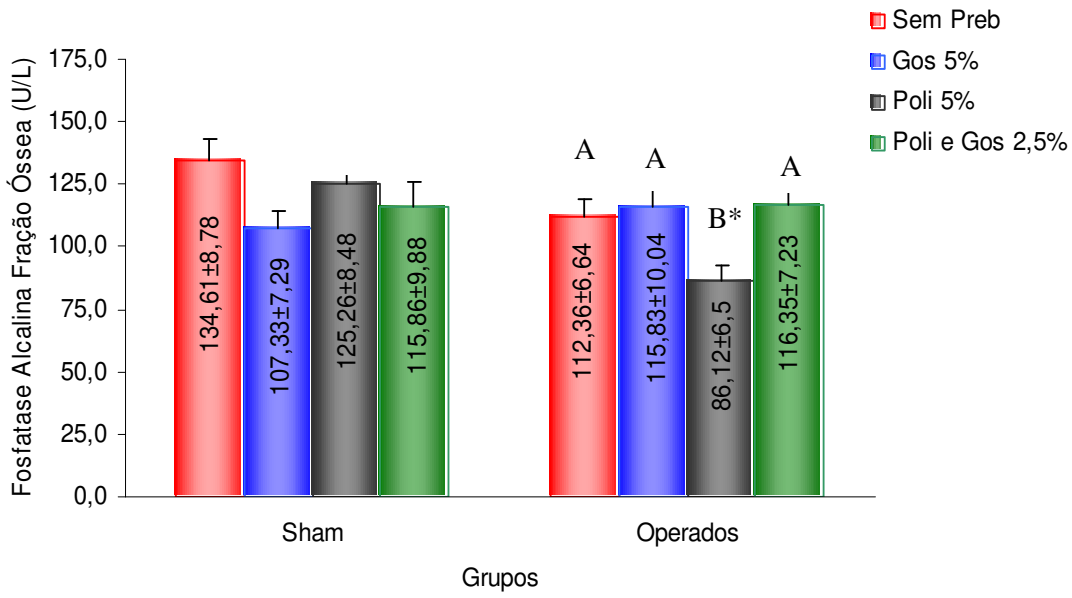


Figura 19. Concentrações médias ± EPM da atividade da fosfatase alcalina óssea (termolábil) sérica.

Letras maiúsculas significam comparação entre o grupo Operado. Letras diferentes no mesmo grupo indicam diferença significativa ao teste de Duncan ($p<0,05$). * Diferença significativa entre o mesmo tratamento no grupo Sham *versus* Operado segundo teste de Duncan ($p<0,05$).

5.9 Ferro fecal / Absorção aparente de ferro

O ferro é um micronutriente necessário em quantidades pequenas (15mg/dia) (WEAVER; HEANEY, 2003). A excreção de ferro é muito restrita e o requerimento por este 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 trato urinário (SCHULTINK; GROSS, 1996).

A absorção do ferro ocorre em todas as porções do intestino delgado; predominantemente no duodeno e parte proximal do jejuno (GUYTON; HALL,

2002). No entanto, qualquer anormalidade no trato gastrintestinal pode alterar sua absorção. A má absorção de ferro é comum depois de algumas cirurgias gastrintestinais, entre as quais encontram-se as ressecções gástricas (BOCCIO et al., 2003).

As concentrações de ferro fecal (mg/g de fezes) dos animais de todos os grupos estão apresentadas na Figura 20. Tanto no grupo Sham quanto no grupo Operado a quantidade de ferro fecal foi estatisticamente menor nos animais dos tratamentos Poli 5% e Poli e Gos 2,5%, quando comparados com os demais tratamentos. Os resultados obtidos e apresentados na Figura 20 corroboram com a afirmação de Ohta e colaboradores (1995) já que a administração de prebióticos diminuiu a excreção de ferro nas fezes.

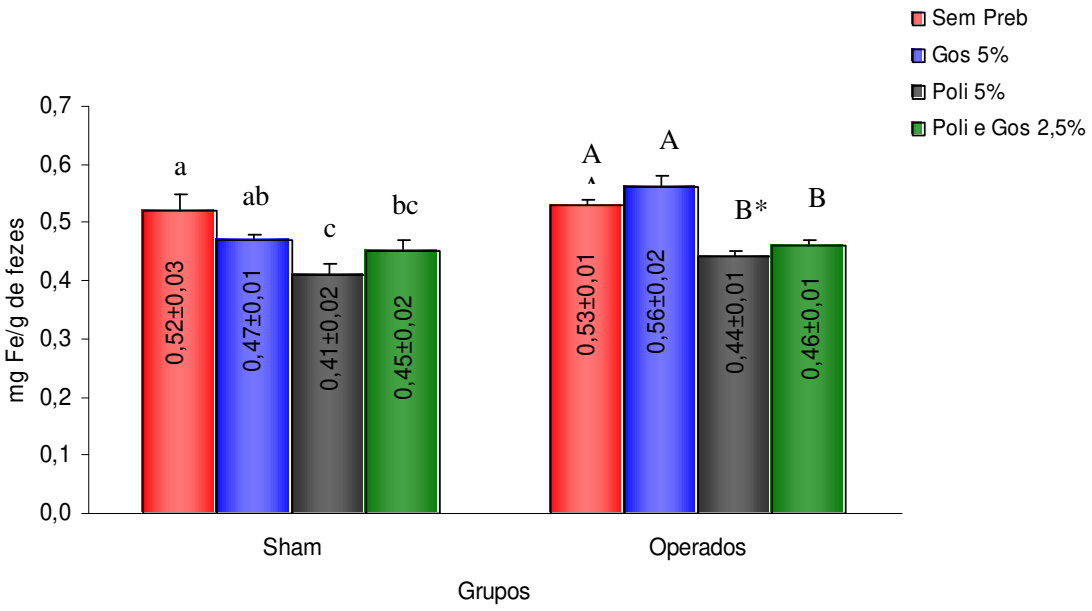


Figura 20. Concentrações médias ± EPM de ferro fecal (mg/g fezes) dos grupos Sham e Operado.

Letras minúsculas significam comparação entre o grupo Sham e letras maiúsculas significam comparação entre o grupo Operado. Letras diferentes no mesmo grupo indicam diferença significativa ao teste de Duncan ($p<0,05$). * Indica diferença significativa entre o mesmo tratamento no grupo Sham *versus* Operado segundo teste de Duncan ($p<0,05$).

A absorção aparente verificada com animais dos grupos Sham e Operado está apresentada na Figura 21. No grupo Operado, verificou-se uma diminuição (60%) da absorção de ferro em relação ao grupo Sham, fato comum após as ressecções gástricas (BOCCIO et al, 2003).

Os tratamentos com Poli 5% e Gos e Poli 2,5% nos animais do grupo Operados apresentaram uma absorção aparente de ferro estatisticamente maior ($p<0,05$). Os animais que receberam a Poli aumentaram a absorção em 73% e os que receberam o Gos e Poli, em 100% em relação àqueles que não receberam prebiótico do mesmo grupo. Além disso, a junção dos dois prebióticos nos animais do grupo Operado não promoveu diferenças estatisticamente significativas dos animais do tratamento sem prebiótico do grupo Sham (controle sem prebiótico e sem cirurgia) . Isto sugere que a Poli isolada e a associação dos prebióticos Gos + Poli proporcionou um efeito sinergístico na absorção de ferro (Figura 21) em ratos gastrectomizados, reduzindo a excreção de ferro nas fezes conforme verificado na Figura 20.

Nos animais do grupo Sham a absorção aparente de ferro foi de 52% estatisticamente maior ($p<0,05$) nos animais que receberam Gos e Poli, comparados com o tratamento sem prebiótico do mesmo grupo. Os valores encontrados foram inversamente proporcionais à quantidade de ferro fecal. Esse resultado reforça a ação benéfica da Poli e da associação da Poli + Gos na absorção de ferro, enfatizando sua denominação como ingrediente funcional.

Resultados similares foram encontrados por Shiga e colaboradores (2006) quando verificaram que a absorção de ferro em ratos gastrectomizados foi menor em relação ao grupo controle. Também verificaram que os gastrectomizados que receberam prebióticos apresentaram uma melhor absorção aparente de ferro.

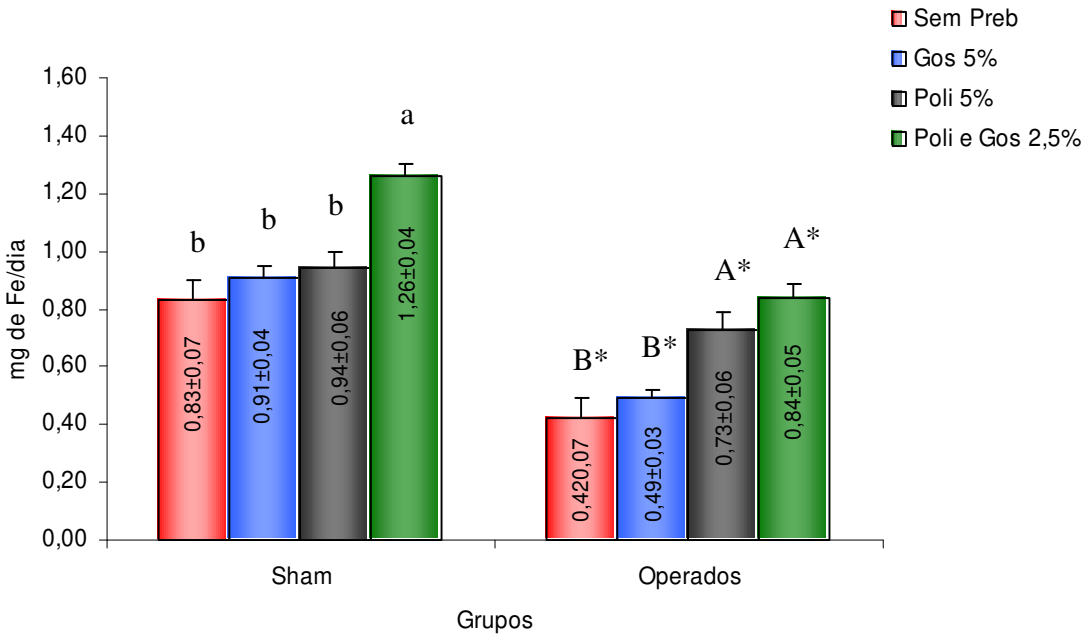


Figura 21. Absorção aparente do ferro (mg/dia) ± EPM dos grupos Sham e Operado.

Letras minúsculas significam comparação entre o grupo Sham e letras maiúsculas significam comparação entre o grupo Operado. Letras diferentes no mesmo grupo indicam diferença significativa ao teste de Duncan ($p<0,05$). * Diferença significativa entre o mesmo tratamento no grupo Sham *versus* Operado segundo teste de Duncan ($p<0,05$).

5.10 Hematócrito

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 (PAIVA; RONDÓ; GUERRA-SHINOHARA, 2000).

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 frequentemente, pelo nome do aparelho utilizado para a determinação "hematócrito" (RAPAPORT, 1990).

Na Figura 22 estão apresentados os resultados de hematócrito (%) verificados com animais dos dois grupos. Os animais do grupo Sham mantiveram os níveis de hematócrito durante o período experimental. Os animais do grupo Operado apresentaram uma queda nos níveis de hematócrito de 14%, do tempo inicial até quarta semana, o que pode ser associado ao processo cirúrgico. A partir da quarta semana, todos os tratamentos apresentaram uma pequena tendência em elevar-se, ressaltando que os animais do tratamento Poli 5% do grupo Operado foi o que recuperou-se totalmente, não diferindo estatisticamente ($p>0,05$) do Poli 5% do grupo Sham.

De acordo com Donaldson (1924); Peckham (1979); Gittes (1986); Klee e colaboradores (1990), Iandoli Jr e colaboradores (2000) existe uma correspondência de 30 dias de vida do homem para cada dia de vida do rato. Verificou-se neste trabalho que da quarta até a oitava semana de suplementação (30 dias) houve recuperação dos níveis de hematócrito nos animais que receberam a Poli 5%. Isto sugere uma resposta similar em humanos, onde os níveis de hematócrito poderiam ser recuperados em aproximadamente 2 anos.

Resultados similares foram obtidos por Shiga e colaboradores (2006) quando estudaram o efeito de dois oligossacarídeos na absorção de ferro na prevenção da anemia pós-grastrectomia em ratos. Os pesquisadores verificaram queda nas concentrações de hematócrito nas primeiras duas semanas no pós-operatório, voltando e até ultrapassando os níveis iniciais até a quarta semana de suplementação. Outros parâmetros hematológicos também foram avaliados e confirmaram os mesmos resultados, constatando-se que a administração desses

oligossacarídeos prevene completamente a má absorção de ferro e a anemia pós-gastrectomia total.

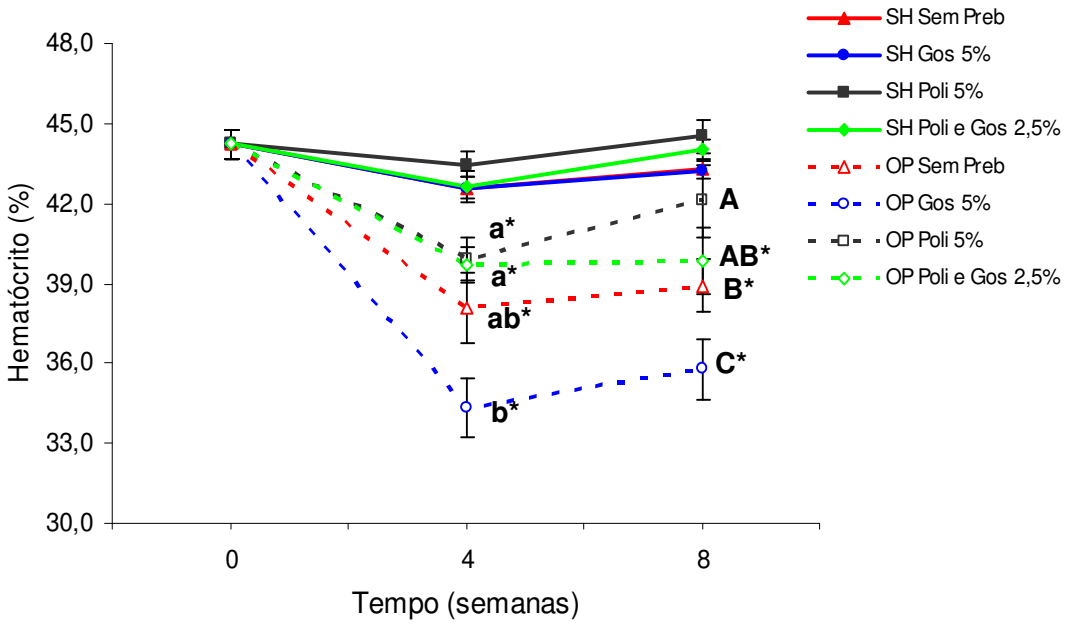


Figura 22. Dosagem de hematócrito (%) ± EPM nos tempo zero (inicial), intermediário (semana 4) e final (semana 8), do grupo Sham e Operado.

Letras minúsculas significam comparação entre os grupos Sham e Operado (4º semana) e letras maiúsculas para a 8º semana. Letras diferentes no mesmo grupo indicam diferença significativa ao teste de Duncan ($p<0,05$). * Diferença significativa entre o mesmo tratamento no grupo Sham *versus* Operado segundo teste de Duncan ($p<0,05$).

5.11 Hemoglobina

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. Porém, pode se encontrar

alterado em condições de infecção e inflamação, hemorragia, hemoglobinopatias, desnutrição protéico-calórica, deficiência de folato e/ou vitamina B_{12}, uso de medicamentos, desidratação, gestação e tabagismo. Além disso, a concentração de hemoglobina é limitada por sua ampla variabilidade entre indivíduos, variando com o sexo, faixa etária e raça. Em crianças, a concentração de hemoglobina modifica-se com o progredir da idade, exibindo diferenças significativas no padrão das mudanças entre os sexos (PAIVA; RONDÓ; GUERRA-SHINOHARA, 2000).

Na Figura 23 estão representados os resultados dos parâmetros de hemoglobina (g/dL) dos animais do grupos experimentais. Os animais do grupo Sham mantiveram os níveis de hemoglobina do tempo inicial até a 8º semana de suplementação.

Em relação aos animais do grupo Operado, todos apresentaram queda dos níveis de hemoglobina em 19% do tempo inicial correspondente à 4º semana. A partir desse período, o tratamento Poli 5% foi o que apresentou melhores resultados por retornar aos índices quase iniciais de hemoglobina, sendo que na 8º semana já estava 14% mais elevado do que os animais que não receberam prebiótico. Como foi dito anteriormente, a hemoglobina fornece informações similares ao hematócrito, sendo ambos utilizados para diagnóstico da anemia.

Estes resultados estão em concordância com outras pesquisas da literatura, onde também relataram o efeito dos oligossacarídeos nas concentrações de hemoglobina (SHIGA et al., 2006; OHTA et al., 1998b; SAKAI et al., 2000). Esses autores observaram que as concentrações de hemoglobina diminuiram após gastrectomia, voltando e até ultrapassando os níveis iniciais quando os animais foram suplementados com prebióticos, evidenciando que a administração de oligossacarídeos não digeríveis pode previnir completamente a má absorção de ferro e a anemia pós-gastrectomia total.

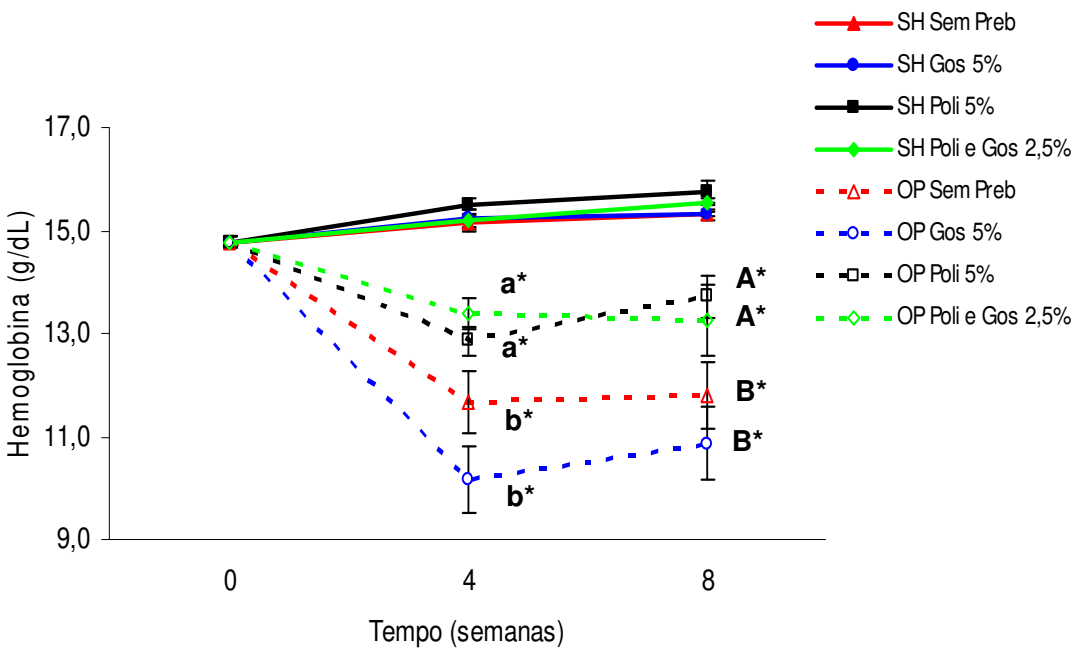


Figura 23. Dosagem de hemoglobina (g/dL) ± EPM nos tempo zero (inicial), intermediário (semana 4) e final (semana 8), do grupo Sham e Operado.

Letras minúsculas significam comparação entre os grupos Sham e Operado da 4º semana e letras maiúsculas para a 8º semana. Letras diferentes no mesmo grupo indicam diferença significativa ao teste de Duncan ($p<0,05$). * Diferença significativa entre o mesmo tratamento no grupo Sham *versus* Operado segundo teste de Duncan ($p<0,05$).

5.12 Volume corpuscular médio (VCM)

Apesar de serem comumente utilizados para avaliar a deficiência de ferro, os índices de células vermelhas (hematimétricos) são mais úteis em diagnosticar a carência de ferro após a manifestação da anemia, uma vez que células hipocrômicas e microcíticas aparecem em maior quantidade no sangue após um decréscimo na concentração de hemoglobina. 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). Entretanto, esse indicador, por considerar o tamanho médio das células vermelhas, não fornece uma idéia da variabilidade do tamanho dessas células no sangue periférico (PAIVA; RONDÓ; GUERRA-SHINOHARA, 2000).

Quando o hemograma é feito manualmente, o VCM é calculado dividindo-se o hematócrito pelo número de hemácias. Como o método mais comumente utilizado é de contagem mecânica, o VCM é medido diretamente de forma muito precisa porque a intensidade do sinal que a hemácia gera no contador varia com o seu volume (RAPAPORT, 1990).

As dosagens de VCM (Figura 24), nos animais do grupo Operado apresentou-se estatisticamente menor ($p<0,05$) do que os animais do grupo Sham. Dentre os animais do grupo Operado, o tratamento Poli e Gos 2,5% apresentou os maiores resultados, diferindo estatisticamente ($p<0,05$) do sem prebiótico e do Gos 5%.

Resultados semelhantes foram verificados com porcos que foram submetidos a uma ressecção gástrica com uma anastomose gastrojejunal em Y de Roux. Observou-se nos animais Operados valores estatisticamente menores de VCM comparado ao controle, como também para a hematócrito, hemoglobina e ferro sérico (GANDARILLAS; BAS; HANGREAVES, [s.d.]).

Como a avaliação do tamanho da hemácia é um ponto chave para o diagnóstico de anemia, esse resultado confirmaram uma anemia nos animais gastrectomizados. Ao analisar este parâmetro e seus resultados, percebe-se que este modelo experimental tem um efeito importante sobre a síntese de glóbulos vermelhos e da hemoglobina. Isso pode estar associado à má absorção de ferro, que ocorre no duodeno e que foi afetada pela intervenção cirúrgica, comprovando a eficiência do modelo experimental utilizado nesta pesquisa para esse tipo de estudo.

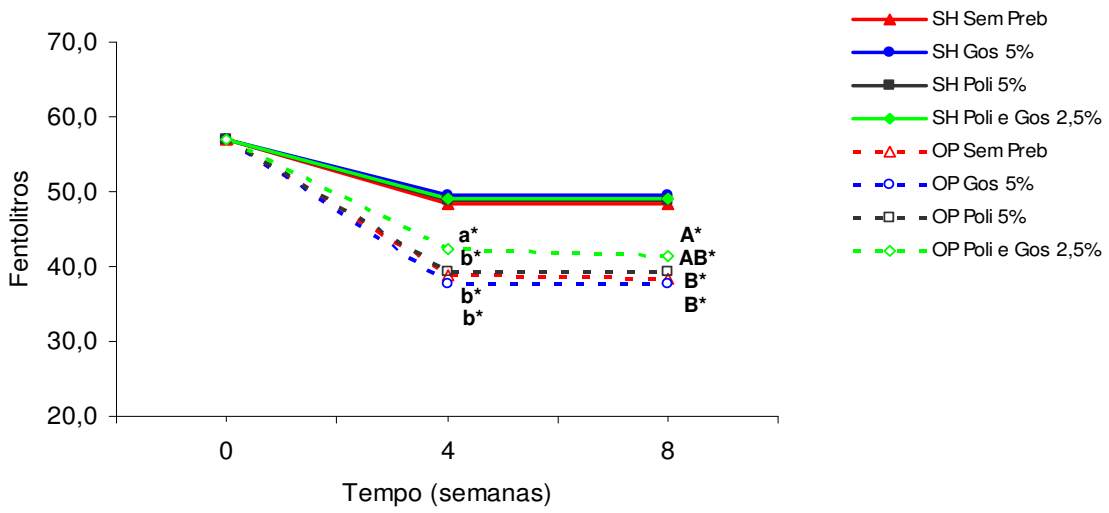


Figura 24. Dosagem de volume corpuscular médio (fentolitros) ± EPM nos tempo zero (inicial), intermediário (semana 4) e final (semana 8), dos animais dos grupos Sham e Operado.

Letras minúsculas significam comparação entre os grupos Sham e Operado da 4º semana e letras maiúsculas para a 8º semana. Letras diferentes no mesmo grupo indicam diferença significativa ao teste de Duncan ($p<0,05$). * Diferença significativa entre o mesmo tratamento no grupo Sham *versus* Operado segundo teste de Duncan ($p<0,05$).

5.13 Hemoglobina corpuscular média (HCM)

Como citado anteriormente, os índices de células vermelhas (hematimétricos) são úteis em diagnosticar a carência de ferro. A hemoglobina corpuscular média (HCM) é um índice hematimétrico comumente utilizado para avaliar a concentração de hemoglobina no eritrócito e quando baixo indica hipocromia (pouca hemoglobina dentro da hemácia) (PAIVA; RONDÓ; GUERRA-SHINOHARA, 2000).

As dosagens de HCM (Figura 25), estão praticamente iguais a do VCM. Os animais do grupo Operado apresentaram HCM estatisticamente menor ($p<0,05$)

do que os animais do grupo Sham. E também entre o grupo Operado, o tratamento Poli e Gos 2,5% foi que mostrou resultados estatisticamente significativos, sugerindo uma ação benéfica da associação desses dois prebióticos nos parâmetros hematológicos após ressecção gástrica, corroborando a denominação de ingrediente funcional.

Ao analisar as Figura 24 e 25 é possível catalogar a anemia nos animais gastrectomizados, como microcítica e hipocrômica (hemácia pequena e pouca hemoglobina dentro da hemácia, respectivamente) caracterizando então, uma anemia por deficiência de ferro (ferropriva) (WORWOOD, 1997; PAIVA; RONDÓ; GUERRA-SHINOHARA, 2000).

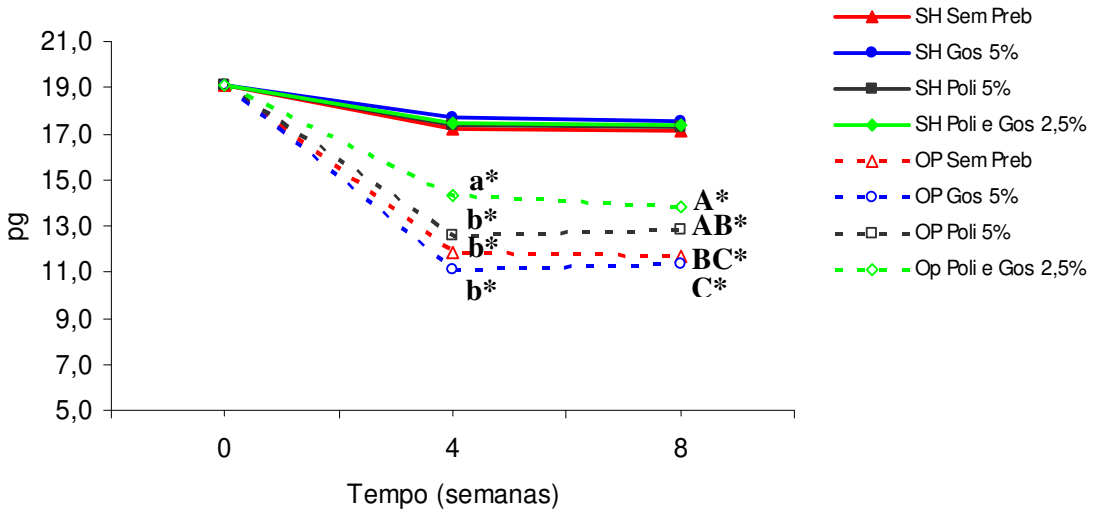


Figura 25. Dosagem de hemoglobina corpuscular média (pg) ± EPM nos tempo zero (inicial), intermediário (semana 4) e final (semana 8), do grupo Sham e Operado.

Letras minúsculas significam comparação entre os grupos Sham e Operado da 4º semana e letras maiúsculas para a 8º semana. Letras diferentes no mesmo grupo indicam diferença significativa ao teste de Duncan ($p<0,05$). * Diferença significativa entre o mesmo tratamento no grupo Sham *versus* Operado segundo teste de Duncan ($p<0,05$).

5.14 Ferro sérico

Quando as reservas de ferro estão exauridas, qualquer declínio adicional no ferro corporal é acompanhado por uma redução na concentração do ferro sérico. Esse é, portanto, um parâmetro bastante utilizado, apesar de ser muito instável. A concentração de ferro sérico está alterada na presença de processos infecciosos. Por isso, na determinação do estado nutricional de ferro, convém considerar que a avaliação da deficiência de ferro é mais bem realizada por uma combinação de vários parâmetros hematológicos e bioquímicos (PAIVA; RONDÓ; GUERRA-SHINOHARA, 2000).

As concentrações de ferro sérico (µg/dL) dos animais dos grupos Sham e Operado estão representados na Figura 26. Todos os tratamentos dos animais do grupo Operado apresentaram valores menores de ferro sérico, comparados ao grupo Sham.

Em relação aos tratamentos, ficou constatado que a utilização dos dois prebióticos (Poli e Gos 2,5%) promovei elevação dos níveis de ferro sérico nos ratos gastrectomizados (Operados) e não gastrectomizados (Sham). Nos animais do grupo Sham a associação dos dois prebióticos aumentou a concentração em 15% em relação aos animais do tratamento sem prebiótico do mesmo grupo (considerado padrão do Sham). No grupo Operado a junção dos dois prebióticos promoveu aumento em 94% nos níveis de ferro sérico quando comparado ao tratamento grupo sem prebiótico. Isso sugere que os dois prébióticos têm um efeito potencializador na absorção de ferro, confirmando os resultados de ferro fecal (Figura 20) e absorção aparente de ferro (Figura 21).

Em estudos anteriores com FOS, foi constatado que a suplementação com esse prebiótico elevou substancialmente os níveis de ferro sérico em relação ao grupo controle em ratos gastrectomizados (OHTA, et al.,1998b; SAKAI, et al., 2000).

Quanto aos tratamentos propostos e os parâmetros hematológicos, o tratamento Poli 5% conseguiu recuperar completamente os valores de hematócrito (Figura 22) e parcialmente a concentração de hemoglobina (Figura 23) no grupo Operado. Assim como no grupo Sham, foi o tratamento que apresentou uma tendência a manter-se elevado em relação aos outros.

Os tratamentos Poli 5% e associação da Poli com o Gos 2,5% aumentaram a absorção aparente de ferro (Figura 21), impedindo a perda de ferro pelas fezes em ratos gastrectomizados (Figura 20). Já em ratos Sham a junção dos dois prebióticos foi o que apresentou melhor absorção aparente (Figura 21). A associação da Poli e Gos 2,5% foi o tratamento que apresentou maior nível de ferro sérico tanto nos animais Operados quanto nos animais Sham (Figura 26) e foi o tratamento que apresentou maior dosagem de VCM e HCM nos animais do grupo Operado (Figuras 24 e 25), sugerindo microcitose e hipocromia.

Esse efeito pode ser explicado com o trabalho de Murphy (2001) quando relatou que as ligações aleatórias da polidextrose impedem que as enzimas digestivas hidrolisem a molécula, sendo então dificilmente digerida no intestino delgado. Probert e colaboradores (2004), constataram “in vitro” que a polidextrose apresenta efeito prebiótico por toda a extensão do cólon, favorecendo então a absorção de minerais ao longo do memso.

Ao analisar estes parâmetros hematológicos, que são os índices que melhor refletem as alterações em relação ao ferro a partir do hemograma, foi possível observar que a gastrectomia parcial exerce um efeito relevante nesses parâmetros. Os animais ficaram particularmente vulneráveis à má absorção de ferro, pois a anastomose foi realizada com o jejuno, ficando o duodeno fora do trânsito intestinal. Além disso, houve a ação reduzida do ácido clorídrico devido à vagotomia anterior e a retirada parcial da porção do estômago, comprovando a eficiência desse modelo experimental para estudos relacionados com o metabolismo do ferro.

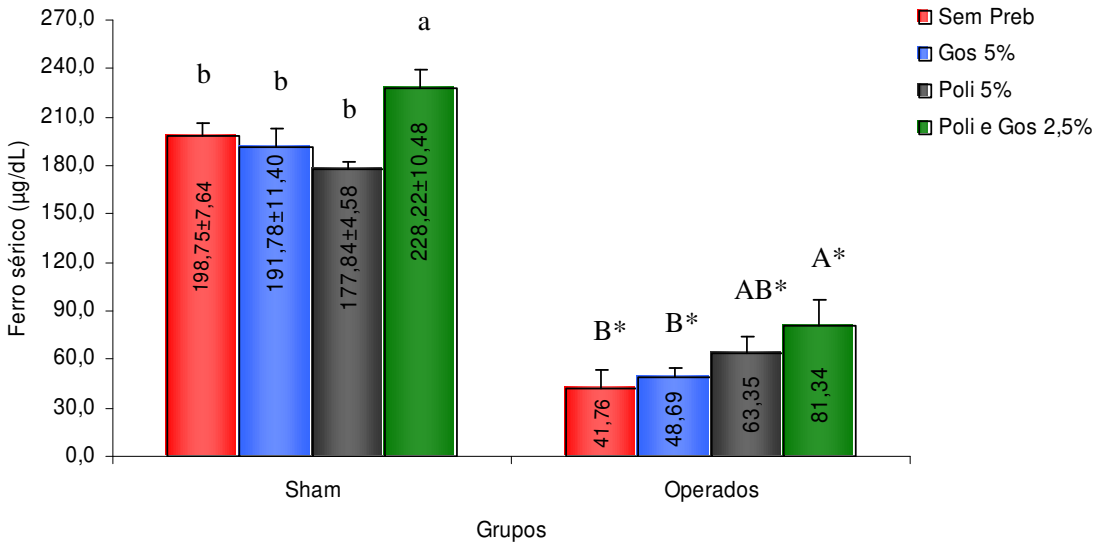


Figura 26. Concentrações médias ± EPM de ferro sérico (ug/dL).

Letras minúsculas significam comparação entre o grupo Sham e letras maiúsculas significam comparação entre o grupo Operado. Letras diferentes no mesmo grupo indicam diferença significativa ao teste de Duncan ($p<0,05$). * Diferença significativa entre o mesmo tratamento no grupo Sham *versus* Operado segundo teste de Duncan ($p<0,05$).

6 CONCLUSÕES

- A concentração sérica de cálcio diminuiu após a gastrectomia.

- A ressecção gástrica diminuiu a excreção de cálcio na urina.

- A absorção aparente de cálcio foi menor nos animais Operados quando comparado aos controles, apesar dos diferentes tipos de tratamento. A administração diária de GOS 5% e a POLI 5% aumentou a absorção aparente de cálcio em ratos controle (Sham).

- A concentração de cálcio ósseo se manteve nos valores de referência, apesar dos diferentes tipos de tratamento, exceto no tratamento sem prebiótico do grupo Sham que apresentou valores menores.

- A atividade da fosfatase alcalina sérica se manteve nos valores de referência, exceto no tratamento Poli 5% do grupo gastrectomizado, sugerindo um aumento do processo de calcificação.

- A ressecção gástrica parcial não afetou intensamente o metabolismo de cálcio, sugerindo que esse protocolo experimental não seja o melhor modelo de depleção de cálcio.

- O procedimento cirúrgico diminuiu a absorção aparente de ferro. A associação do GOS + POLI 2,5% aumentou a absorção de ferro em ratos gastrectomizados e Sham, e a POLI 5% aumentou a absorção aparente em ratos gastrectomizados.

- As dosagens de hematócrito e hemoglobina foram menores nos animais Operados, comparados ao Sham. O tratamento POLI 5% aumentou os níveis de hematócrito e hemoglobina em animais Sham e Operados.

- As dosagens de VCM e HCM foram menores nos animais gastrectomizados comparados ao controle. A associação dos dois prebióticos GOS + POLI 2,5% manteve os níveis de VCM e HCM mais elevado dentre os animais do grupo Operados. Entretanto a POLI 5% aumentou a concentração de hemoglobina (HCM) no dentre o grupo Operado.

- A concentração de ferro sérico foi menor nos animais Operados, comparados ao Sham. A POLI 5% aumentou as concentrações de ferro sérico nos animais Operados, enquanto a associação da POLI + GOS 2,5% aumentou nos animais Operados e Sham. Deste modo, há fortes evidências que a associação dos dois prebióticos atuem como sinergistas, potencializando o efeito prebiótico.

- A ressecção gástrica parcial deixou os animais vulneráveis à má absorção de ferro, comprovando a eficiência desse modelo experimental para estudos relacionados ao metabolismo do ferro.

7 REFERÊNCIAS

ABIB, A. R.; OLIVEIRA, I. M.; KOIFMAN, S. Histopatologia do câncer de estômago (classificação de Lauren) em amostra de pacientes hospitalares no Rio de Janeiro, 1980-1995. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 13, (Suppl. 1), p. 99-104, 1997.

ALLEN, L. H. Calcium bioavailability and absorption: a review. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v.35, p. 783-808, 1982.

ANDERSON, J. J.B. Minerais. In: MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. **Krause alimentos, nutrição e dietoterapia**. 10. ed. São Paulo: Roca, 2002, p. 106-145.

AOAC – Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis**, 15th ed. Washington D.C, 1990. 1141 p.

ARAI, S. Physiological functions of foods. **Proceedings of the 6th International Congress on Engineering and Food,** Chiba, Japan, 1993, p.48-53.

AXELSON, J.; PERSSON, P.; GAGNEMO-PERSSON, R.; HAKANSON, R. Importance of the stomach in maintaining calcium homoeostasis in the rat. **Gut**, London, v. 32, n. 11, p. 1298-1302, 1991.

BARRIOS, M. O.; GÓMEZ, H. G. D.; DELGADO, N. E. Metabolismo del hierro. **Revista Cubana Hematología Inmunología y Hemoterapia**, Cuba, v. 16, n. 3, p. 149-60, 2000.

BENITO, P.; MILLER, D. Iron absorption and bioavailability: an updated review. **Nutrition Research**, Tarrytown, v. 18, n. 3, p. 581-603, 1998.

BIANCHI, M. L. P.; SILVA, H. C.; DUTRA DE OLIVEIRA, J.E. Considerações sobre a biodisponibilidade do ferro dos alimentos. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición,** Spanish, v. 42, n. 2, p. 94-100, 1992.

BLIGH, E. C.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, Ottawa, v. 37, n. 7, p. 911-917, 1959.

BOCCIO, J., SALGUEIRO, J., LYSIONEK, A., ZULILLAGA, M., GOLDMAN, C., WEILL, R., CARO, R. Metabolismo del hierro: conceptos actuales sobre um micronutriente esencial. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Spanish, v. 53, n. 2, p. 119-132, 2003.

BRITO, A. V. Câncer de estômago:fatores de risco. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, n.13, (Suppl.1), p.7-13, 1997.

BRITO, E. A. FAVARETTO, J. A. **Biologia:** Uma abordagem evolutiva e ecológica. São Paulo:Moderna, v.2, 1997.

BROADUS, A. E. Physiological functions of calcium, magnesium and phosphorus and mineral íon balance. In: **Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism**. 2 ed. New York: Raven Press, 1993, p. 41-46.

BRONNER, F. Current concepts of calcium absorption: na overview. **The Journal of Nutrition,** Bethesda, v. 122, (Supl. 3), p. 641-643, 1992.

BROUNS, F.; VERMEER, C. Functional food ingredients for reducing the risks of osteoporosis. **Trends in Food Science and Techonology,** Singapure, v. 11, n. 1, p. 22-33, 2000.

BRUNKEN, G. S.; SZARFARC, S. C. Anemia ferropriva em pré-escolares: conseqüências, formas de controle e histórico das políticas nacionais de redução da deficiência. **Cadernos de Nutrição**, São Paulo, v. 17, n. 1, p. 1-19, 1999.

CARDOSO NETTO, C. **Avaliação da biopotência dos frutooligossacarídeos (FOS) e da terapia de reposição hormonal (TRH) no metabolismo de cálcio de ratas ovarectomizadas.** 2005. 97 p. Dissertação (Mestre em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

CARPENTER, C. E.; MAHONEY, A. W. Contributions of heme and nonheme iron to human nutrition. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Philadelphia, v. 31, n. 4, p.333-3678, 1992.

CASHMAN, K. D. Calcium intake, calcium biovailability and bone health. **British Journal of Nutrition**, Oxon, v. 87 (Suppl. 2), p. S169-S177, 2002.

CÉSAR, A. C. G.; SILVA, A. E.; TAJARA, E. H. Fatores genéticos e ambientais envolvidos na carcinogênese gástrica. **Arquivos de Gastroenterologia**. São Paulo, v. 39, n. 4, p. 253-259, 2002.

CHONAN, O.; MATSUMOTO, K. WATANUKI, M. Effect of galactooligosaccharides on calcium absorption and preventing bone loss in ovariectomized rats. **Bioscience Biotechnology Biochemistry**, Tokyo, v. 59, n. 2, p. 236-239, 1995.

CHONAN, O.; WATANUKI, M. Effect of galactooligasaccharides on calcium absorption in rats. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**, Tokyo, v. 41, n. 1, p. 95-104, 1995.

CHONAN, O.; WATANUKI, M. The effect of 6'-Galactooligosaccharides on Bone Mineralization of Rats Adapted to Different Leves of Dietary Calcium. **International**

Journal for Vitamin and Nutrition Research, Toronto, v. 66, n. 3, p. 244-249, 1996.

COOK, J. D.; FINCH, C. A. Assessing iron status of a population. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 32, p. 2115-2119, 1979.

COTRAN, R. S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. **Patologia estrutural e funcional**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. 1251p.

COXAM, V. Inulin-type fructans and bone health: state of the art and perspectives in the management of osteoporosis. **British Journal of Nutrition**, Oxon, v. 93, (Suppl.1), p. 111-123, 2005.

CRAIG, S. A. S.; HOLDEN, J. F.; TROUP, J. P.; AUERBACH, M. H.; FRIER, H. I. Polydextrose as soluble fiber: physiological and analytical aspects. **American Association of Cereal Chemists,** New York, v. 43, n. 5, p. 84-88, 1998.

CRITTENDEN, R. G.; PLAYNE, M. J. Production, properties and applications of food-grade oligosaccharides. **Trends in Food Science and Technology,** Singapure, v. 7, n. 11, p. 353-361, 1996.

DÂNGELO, J. G.; FATTINI, C. A. **Anatomia humana sistêmica e segmentar.** 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2003. 653p.

DE ANGELIS, R. C.; CTENAS, M. L. B. **Biodisponibilidade de ferro na alimentação infantil.** Nestlé – Serviço de Informação Científica. Temas de Pediatria, 1993, 53p.

DELZENNE, N. M. Oligosaccharides:state of the art. **The Proceedings of the Nutrition Society**, London, n. 62, p. 177-182, 2003.

DONALDSON, H.H. **The rat**. 2.ed. Philadelphia, 1924.

FAIRBANKS, V. F. O Ferro em medicina e nutrição. In: SHILS, M. E.; OLSON, J. A.; SHIKE, M.; ROSS, A. C. **Tratado de nutrição moderna na saúde e na doença**. Barueri: Manole, 2003, p. 207-237.

FLEURY – MEDICINA DIAGNÓSTICA. <<http://www.fleury.com.br/htmls/cdrom/capitulo1impresao.htm>> Acesso em 28/02/2005.

FOOD AND NUTRITION BOARD. **Dietary reference intakes**: Recommended levels for individual intake. Standing Committee on the Scinetific Evaluation of Dietary Reference Intakes. Washington, DC: National Academy of Sciences, 1998.

GANDARILLAS, M.; BAS, F. M. **Actualización del metabolismo del hierro y sua consecuencias post-bypass gástrico en Y de Roux utilizando al cerdo como modelo.** [s.d] 67 p. Dissertação (Mestre em Agronomia e Engeniería Forestal) – Faculdade de Agronomia, Pontificia Universidad Católica de Chile, [s.d.].

GITTES, R. F. Carcinogenesis in ureterosigmoidostomy. **The Urologic Clinics of North America**, Philadelphia, v. 2, n. 13, p. 201-205, May, 1986.

GOENA, M.; MARZO, F.; FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, L.; TOSAR, A.; FRÜHBECK, G.; SANTIDRIÁN, S. Effect of the raw legume Vicia ervilha on muscle and liver protein metabolism in growing rats. **Revista Española de Fisiologia**, Pamplona, v.45, n.1, p.55-60, 1989**.**

GUÉGUEN, L.; POINTILLART, D. V. M. The biovailability of dietary calcium. **Journal of the American College of Nutrition**, United States, v. 19, n. 2, p. 119S-136S, 2000.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de fisiologia médica.** 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 973 p.

HAAS, J. D.; BROWNLIE, T. Iron deficiency and reduced pork capacity:a critical review of the research to determine a causal relationsship. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v.131, (Suppl.), p. 676S-690S, 2001.

HARA, H.; SUZUKI, T.; AOYAMA, Y. La ingesta de fibras dietarias solubles, polidextrosa, incrementa la absorción de cálcio y la mineralización ósea em ratas normales y gastrectomizadas. **British Journal of Nutrition**, Oxon, n. 84, p. 655-661, 2000.

HOEY, J.; MONTVERNAY, C.; LAMBERT, R. Wine and tobacco: risk factors for gastric cancer in France. **American Journal of Epidemiology**, Baltimore, n.113, p. 668-674, 1981.

IANDOLI JR, D.; NIGRO, A. J. T.; SEMENTILLI, A.; JULIANO, Y. NOVO, N. F. Comparação das anastomoses esôfago-gástricas término-terminais em plano único e por invaginação de submucosa e mucosa em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v.15, n.1, 2000.

INCA - Instituto Nacional do Câncer, 2006. Disponível no site: <<http://www.inca.gov.br>> Acesso 19/12/2006.

JEDRYCHOWSKI, W.; WAHRENDORF, J; POPIELA, T.; RACHTAN, J. A case-control study of dietary factors and stomach cancer risk in Poland. **International Journal of Cancer**, Genève, n.37, p.837-842, 1986**.**

JIE, Z.; BANG-YAO, L.; MING-JIE, X.; HAI-WEI, L.; ZU-KANG, Z.; TING-SONG, W.; CRAIG, S.A. Estudo sobre os efeitos da ingestão de polidextrose sobre as

funções fisiológicas em Chineses. **Americam Journal Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 72, p. 1503-1509, 2000.

JORGETTI, V. **Biópsia óssea e análise histomorfométrica**. In: Manual de doenças ósteo-metabólicas. Campinas: Instituto Fleury, 2005.

KASSAB, P.; LEME, P. L. S. Epidemiologia do câncer gástrico. **Revista da Associação Médica Brasileira**. São Paulo, v. 49, n. 3, p. 225-243, 2003.

KENNEFICK, S.; CASHMAN, K. D. Investigation of an in vitro model for redicting the effect of food components on calcium availability from meals. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, Basingstoke, v. 51, p. 45-54, 2000.

KLEE, L. W.; HOOVER, D. M.; MITCHELL, M. E; RINK, R. C. Long term effects of gastrocystoplasty in rats. Urology Journal, New York, v. 144, n. 5, p. 1283-1287, 1990.

KLEIN, S.; COHN, S. M.; ALPERS, D. H. O trato alimentar em nutrição:um guia. In: SHILS, M.E.; OLSON, J.A.; SHIKE, M.; ROSS, A.C. **Tratado de nutrição moderna na saúde e na doença**. Barueri: Manole, 2003, p. 647-672.

KNELLER, R.W.; McLAUGHLIN, J.K.; BJELKE, E. A cohort study of stomach cancer in a high risk american population. **Cancer**, New York, v. 68, n. 3, p. 672-678, 1991.

KOBAYASHI, Y. I.; KIM, K. J.; ITOH, T. Gene expression of bone-resobing cytokines in rat osteolysis model. **Journal of Orthopaedic Science**, Tokyo, v.10, n.1, p.62-69, 2005.

LAMBERT, R. **Surgery of the digestive sistem in the rat**. Illinois: Charles, C. Thomas Publisher, 1965.

LANNA, C. M. M.; MONTENEGRO J. R., R. M.; PAULA, F. J. A. Fisiopatologia da osteoporose induzida por glicocorticóide. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabologia,** Rio de Janeiro, v. 47, n. 1, p. 9-18, 2003.

LANZILLOTTI, H. S. LANZILLOTTI, R. S.; TROTTE, A. P. R.; DIAS, A. S.; BORNAND, B.; COSTA, E. A. M. M. Osteoporose em mulheres na pós-menopausa, cálcio dietético e outros fatores de risco. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 16, n. 2, p. 181-193, 2003.

LATUNDE-DADA, G. O.; DUTRA DE OLIVEIRA, J. D.; CARILHO, S. V.; MARCHINI, J. S.; BIANCHI, M. L. P. Gastrointestinal tract and iron absorption: a review. **Alimentação e Nutrição**, São Paulo, v. 9**,** p.103-125, 1998.

LINDER, M. C. Nutrition and metabolism of the major minerals. In: **Nutrition Biochemistry and Metabolism**. Califórnia: Prentice-Hall International. 1991, p.191-213.

MANNING, T. S.; GIBSON, G. R. Prebiotics. **Best Practice and Research Clinical Gastroenterology**, London, v. 18, n. 2, p. 287-298, 2004.

MENEGHELLI, U. G.; TRONCON, L. E. A. In: PORTO, C. C. **Semiologia médica**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 1428p.

MILLER, D. D. Minerals. In: FENNEMA, O.R. **Food Chemistry**. 3 ed. New York: Marcel Dekker, 1996.

MODLER, H. W. Bifidogenic factors-Sources, metabolism and applications. **International Dairy Journal,** Barking, v. 4, p. 383-407, 1994.

MOROHASHI, T.; HIRAMA, Y.; TAKAHARA, S.; SANO, T.; SAITOH, S.; OHTA, A.; SASA, R.; YAMADA, S. Defects in mandibular bone area, enamel iron content and

dentine formation following gastrectomy in rats. **Archives of Oral Biology**, New York, v. 47, n. 6, p. 499-504, 2002.

MURPHY, O. Non-polyol low-digestible carbohydrates: food applications and functional benefits. **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, n. 85, (Suppl.1), p. S47-S53, 2001.

NAKANO, H. Recente japanese development in the enzymatic production and application of oligosaccharides; **Apresentado no Seminário on Enzyme and Bacterial Technology**, 1998, Campinas. Japan International Cooperation Agency (s.d).

NIH – NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH. Consensus Conference Development Panel on Optimal Calcium Intake. Optimal calcium Intake. **The Journal of the American Medical Association**, Chicago, v. 272, p. 1942-1948,1994.

NOMURA, A; GROVE, J. S.; STEMMERMANN, G. N.; SEVERSON, R. K. A prospective study of stomach cancer and its relation to diet, cigarettes and alcohol consumption, **Cancer Research**, Chicago, v. 50, n. 3, p. 627-631, 1990.

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. **Journal of Nutrition Science and Vitaminology**, Tokyo, v. 41, n. 3, p.281-191, 1995.

OHTA, A.; OHTSUKI, M.; UEHARA, M.; HOSONO, A.; HIRAYAMA, M.; ADACHI, T.; HARA, H. Dietary fructooligosaccharides prevent postgastrectomy anemia and osteopenia in rats. **The Journal of Nutrition,** Bethesda, v. 128, n. 3, p. 485-490, 1998b.

OHTA, A; OHTSUKI, M; HOSONO, A; ADACHI, T.; HARA, H. SAKATA, T. Dietary fructooligosaccharides prevent osteopenia after gastrectomy in rats. **The Journal of Nutrition,** Bethesda, v. 128, n.1, p. 106-110, 1998a.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS) - **Anemias Nutricionais**: Informe de um grupo científico, Genebra, OMS, 1968, (Série de Informes Técnicos, 405).

PAIVA, A. A.; RONDÓ, P. H. C.; GUERRA-SHINOHARA, E. M. Parâmetros para avaliação do estado nutricional de ferro. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 34, n. 4, p. 421-426, 2000.

PANSU, D.; BRONNER, F. Nutritional aspects of calcium absorption. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 129, n. 1, p. 9-12, 1999.

PAPINI-BERTO, S. J.; BURINI, R. C. Causas da desnutrição pós-gastrectomia. **Arquivos de Gastroenterologia,** São Paulo, v. 38, n. 4, p. 272-275, 2001.

PECKHAM, J. C. Experimental oncology. In: Baker, H. J.; LINDSEY, J. R.; WEISBROTH, S. H. **The laboratory rat**. New York: Academic Press, 1979. 119p.

PRENOSIL, J.E.; STUKER, E.; BOURNE, J.R. Formation of oligosccharides during enzymatic lactose hydrolysis and their importance in a whey hydrolysis process: part II: **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v. 30, p.1026-1031, 1987.

PRISCO, C.; LEVINE, S. N. Metabolic bone disease after gastric bypass surgery for obesity. **The American Journal of the Medical Sciences**, Philadelphia, v. 2, n. 329, p. 57-61, 2005.

PROBERT, H. M.; APAJALAHTI, J. H. A.; RAUTONEN, N.; STOWELL, J.; GIBSON, G. R. Polydextrose, lactitol, and fructo-oligosaccharide fermentation by

colonic bacteria in a three-stage continuous culture system. **Appplied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 70, n. 8, p. 4505-4511, 2004.

RANZI, S.; VINAY, K.; TUCKER, C. **Patologia estrutural e funcional**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 6 ed., 2000. p. 1087-1114.

RAPAPORT, S.I. **Introdução à Hematologia**. 2 ed., São Paulo: Roca, 1990. p. 8-29.

REEVES, P. G.; NIELSON, F. H.; FAHEY JR, G. C. 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. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 123, n. 11, p.1939-1951, 1993.

RIGGS, B. L.; MELTON, L. J. The worldwide problem of osteoporosis: insights afforded by epidemiology. **Bone**, Elmsford, v. 17 (Suppl.5), p.505S-511S, 1995.

RIVERO-URGELL, M.; SANTAMARIA-ORLEANS, A. Oligosaccharides:application in infant food. **Early Human Development**, Amsterdam, v. 65 (Suppl.), p. S43-S52, 2001.

ROVIELLO, F.; FOTIA, G.; MARRELLI, D.; STEFANO, A.; MACCHIARELLI, R.; PINTO, E. Iron deficiency anemia after subtotal gastrectomy for gastric câncer. **Hepato-Gastroenterology**, Italy, v. 51, n. 59, p.1510-1514, 2004.

RUSSO, L. A. Osteoporose pós-menopausa: Opções terapêuticas. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabologia**, São Pulo, v. 45, n. 4, p. 401-406, 2001.

SAKAI, K.; ARAMAKI, K.; TAKASAKI, M.; INABA, H.; TOKUNAGA, T.; OHTA, A. Effect of dietary short-chain fructooligosaccharides on the cecal microflora in

gastrectomized rats. **Bioscience Biotechnology Biochemistry**, Tokyo, v. 65, n. 2, p. 264-269, 2001.

SAKAI, K.; OHTA, A.; SHIGA, K.; TAKASAKI, M.; TOKUNAGA, T.; HARA, H. The cecum and dietary short-chain fructooligosaccharides are involved in preventing postgastrectomy anemia in rats. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 130, [s.n], p. 1608-1612, 2000.

SAKO, T.; MATSUMOTO. K.;TANAKA, R. Recent progresso on research and applications of non-digestible galacto-oligosacharides. **International Dairy Journal,** Barking, v. 9, n.1, p. 69-80, 1999.

SARAIVA, G. L.; LAZARETTI-CASTRO, M. Marcadores bioquímicos da remodelação óssea na prática cínica. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, Rio de Janeiro, v. 46, n. 1, p**.** 1-7, 2002.

SCHÖLMERICH, J. Postgastrectomy syndromes – diagnosis and treatment. **Research Clinical Gastroenterology**, London, v.18, n.5, p.917-933, 2004.

SCHOLZ-AHRENS, K. E.; SCHREZENMEIR, J. Inulin, oligofructose and mineral metabolism-experimental data and mechanism. **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 87 (Suppl.2), p. 179-186, 2002.

SCHUBERT, M. L. Gastric secretion. **Current Opinion in Gastroenterology**, Virginia, n.19, p. 519-525, 2003.

SCHULTINK, W.; GROSS, R. Iron deficiency alleviation in developing countries. **Nutrition Research Reviews**, Cambridge, v. 9, n. 1, p. 281-293, 1996.

SGARBIERI, V. C.; PACHECO, M. T. B. Alimentos funcionais fisiológicos. **Brazilian Journal of Food Technology,** Campinas, v. 2, n. 1-2, p. 7-19, 1999.

SHARP, P. A., TANDY, S. R.; SRAI, S. K. Mechanisms involved in the regulation of intestinal iron absorption. **Nutrition Abstracts and reviews**, Farnham, v.73, n.3, 2003.

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. **The Journal of Nutrition,** Bethesda, v. 133, n. 4, p. 1120-1126, 2003.

SHIGA, K.; NISHIMUKAI, M.; TOMITA, F.; HARA, H. Ingestion of difructose anhydride III, a non-digestible disaccharide, prevents gastrectomy-induced iron malabsorption and anemia in rats. **Nutrition,** Burbank**,** v. 22, n. 7 - 8, p.786-793, 2006.

SHIKAWA, F.; TAKAYAMA, H.; MATSUMOTO, K.; ITO, M. CHONAN, O.; DEGUCHI, Y.; KIKUCHI-HAYAKAWA, H.; WATANUKI, M. Effets of ß 1-4 linked galacto-oligosaccharides on human fecal microflora. **Bifidus**, v. 9, p. 5-18, 1995.

SHILS, M. E.; OLSON, J. A.; SHIKE, M.; ROSS, A. C. **Tratado de nutrição moderna na saúde e na doença**. 9. ed. v.1, São Paulo: Manole, 2003. 1026p.

SITE: http://geocities.yahoo.com.br/anutricao. Acesso em: 22/04/2006.

STATSOFT, Inc. **STATISTICA for Windows** [Computer program manual]. Tulsa, USA, WEB:http://www.statsoft.com. 2000.

STENSON, W. F. O esôfago e o estômago. In: SHILS, M.E.; OLSON, J.A.; SHIKE, M.; ROSS, A.C. **Tratado de nutrição moderna na saúde e na doença**. Barueri: Manole, 2003. p.1203-1212.

STOLTZFUS, R. J. Summary:implications for research and programs. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 131 (Suppl.), p. 697S-701S, 2001.

SZEJNFELD, V. L. **Osteoporose:** diagnóstico e tratamento. São Paulo: Sarvier, 2000. 406 p.

TEITELBAUM, S. L. Postmenopausal osteoporosis T cells and immune dysfunction. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 101, n. 48, p. 16711-16712, 2004.

TEIXEIRA, J. B. A.; NOGUEIRA, M. S. Câncer gástrico: fatores de risco em clientes atendidos nos serviços de atenção terciária em um município do interior paulista. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**. São Paulo, v. 11, n. 1, p. 43-48, 2003.

TOMOMATSU, H. Health effects of oligosaccharides. **Food Technology**, Chicago, v. 48, n. 10, p. 61-65, 1994.

TUNGLAND, B. C.; MEYER, D. Nondigestible oligo and polysaccharides (dietary fiber): their physiology and role in human health and food. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Cleveland, v. 3, p. 73-92, 2002.

VANNUCCHI, H.; MENEZES, E. W.; CAMPANA, A. O. **Aplicação das recomendações nutricionais adaptadas à população brasileira.** Caderno de Nutrição 2, Ribeirão Preto: SBAN, 1990. 156p.

VELOSO, G. A.; XIMENES, A. C. Ossos. In: PORTO, C. C. **Semiologia médica.** 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabana Koogan, 2001. 1428p.

VIEIRA, J. G. H. V. Exames e métodos laboratoriais relacionados com o metabolismo ósseo. In: **Manual de doenças ósteo-metabólicas**. Campinas: Instituto Fleury, 2005.

VORAGEN, A. G. J. Technological aspects of functional food-related carbohydrates. **Trends in Food Science and Technology**, Inglaterra, v. 9, n. 8, p.328-335, 1998.

WAYNFORTH, H. B. **Experimental and surgical technique in the rat**. London: Academic Press. 1980. 269p.

WEAVER, C. M.; HEANEY, R. P. Cálcio. In: SHILS, M. E.; OLSON, J. A.; SHIKE, M.; ROSS, A. C. **Tratado de nutrição moderna na saúde e na doença**. Barueri: Manole, 2003. p. 153-168.

WOOD, R. J. Searching for the determinants of intestinal calcium absorption. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 72, n. 3, p. 675-676, 2000.

WORWOOD, M. The laboratory assessment of iron status – anupdate. **Clinica Chemica Acta**, Amsterdam, v. 18, n. 259, p. 3-23, 1997.

YOSHIOKA, M.; SHIMOMURA, Y.; SUZUKI, M. Dietary polidextrose affects the large intestine in rats. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 124, n. 4, p. 539-547, 1994.

ZITTEL, T. T.; ZEEB, B.; MAIER, G. W.; KAISER, G. W.; ZWIRNER, M.; LIEBICH, H.; STARLINGER, M.; BECKER, H. D. High prevalence of bone disorders after gastrectomy. **The American Journal of Surgery**, New York, v. 174, p. 431-438, 1997.

ZUBILLAGA, M.; WEILL, R.; POSTARE, E.; GOLDMAN, C.; CARO, R.; BOCCIO, J. Effects of probiotics and functional foods and their use in different diseases. **Nutrition Research,** Los Angeles**,** v. 21, n. 3, p. 569-579, 2001.

8 ANEXOS

Anexo 1

Universidade Estadual de Campinas
Instituto de Biologia

CEEA-IB-UNICAMP

Comissão de Ética na Experimentação Animal
CEEA-IB-UNICAMP

C E R T I F I C A D O

Certificamos que o Protocolo nº **839-1**, sobre **"EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE GALACTOOLOGOSSACARÍDEO E POLIDEXTROSE NA ABSORÇÃO DE CÁLCIO E FERRO EM RATOS GASTRECTOMIZADOS"** sob a responsabilidade de **Prof. Dr. Célio Kenji Miyasaka / 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)-IB-UNICAMP em reunião de 08 de junho de 2005.

C E R T I F I C A T E

We certify that the protocol nº **839-1**, entitled **"THE EFFECT GALACTOOLIGOSACCHARIDES AND POLYDEXTROSE SUPPLEMANTATION ON THE CALCIUM AND IRON ABSORPTION IN GASTRECTOMIZED RATS"**, 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 June 8, 2005.

Campinas, 08 de junho de 2005.

Profa. Dra. Liana Verinaud
Presidente - CEEA/IB/UNICAMP

Fátima Alonso
Secretária - CEEA/IB/UNICAMP

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CIDADE UNIVERSITÁRIA ZEFERINO VAZ
CEP -13.081-970 - CAMPINAS - SP – BRASIL

TELEFONE 55 19 3788-6359
FAX 55 19 32893124

Anexo 2

CAT N.º 00800
Somente para
Uso in Vitro

CÁLCIO
MÉTODO COLORIMÉTRICO

LABORLAB

DEFINIÇÃO
O teste é feito para determinar os níveis de cálcio, que é o responsável pela contração muscular, transmissão nervosa e coagulação sangüínea. O hormônio paratireoideano e a vitamina D aumentam a absorção de cálcio do tracto gastrointestinal e aumentam a liberação do cálcio para os ossos na existência de déficit.

FISIOPATOLOGIA
O cálcio quando é removido por desmineralização pode causar fragilidade óssea e fraturas.

SIGNIFICADO CLÍNICO
Valores elevados - Hiperparatireoidismo, alcalose, grande consumo de cálcio, hipervitaminose, hipertireoidismo, uremia, transplante renal, mieloma múltiplo, fraturas, cálculo renal, exercício em excesso, indivíduos acamados por períodos prolongados.
Valores baixos - Diarréia, abuso de laxante, infecções sérias, queimaduras, hipoparatireodismo, alcoolismo, pancreatite, deficiência renal crônica, absorção deficiente de cálcio.

INTERFERÊNCIAS
Falsos valores elevados - Estrógenos, sais de cálcio, vitamina D, antiácidos, dieta rica em cálcio.
Falsos valores baixos - Cortisona, gentamicina, meticilina, uso excessivo de laxante, heparina, insulina, mitramicina, dieta pobre em cálcio, cloreto de sódio intravenoso.

MÉTODO
Colorimétrico de Ponto Final.

LINEARIDADE E ESTABILIDADE DA REAÇÃO
A reação é linear até 20 mg/dL. Para valores superiores utilizar 10 µL de amostra e multiplicar o resultado final por 2. A cor final da reação é estável por 3 horas

COMPOSIÇÃO DO KIT
Reativo Padrão CAT N.º 00801
Solução estabilizada de Cálcio = 10 mg/dL
Volume = 4 mL
Reativo CFX CAT N.º 00802
Solução estabilizada de Cresolftaleína
Complexona = 3,7 mmol/L Volume = 3,5 mL
Reativo Tampão CAT N.º 00803
Solução de AMP = 0,2 mmol/L, pH=11
Volume = 250 mL

MATERIAL NÃO FORNECIDO (NECESSÁRIO)
Espectrofotômetro ou Colorímetro
Micropipetas e pipetas capazes de medir os volumes indicados na técnica.
Tubos de ensaio.
Relógio ou Cronômetro.

VIDA ÚTIL E ARMAZENAMENTO
O kit é estável até seu vencimento impresso na caixa, quando à temperatura ambiente.

PRECAUÇÕES
O kit não contém derivados de sangue humano, porém, considerar qualquer amostra de paciente como potencialmente infectante. Evitar o contato direto com as amostras.
Não pipetar reagentes ou amostras com a boca .
Descartar as sobras das reações de acordo com as Boas Práticas de Laboratório em local próprio para materiais potencialmente infectantes.

AMOSTRA
Soro ou urina, não usar plasma, pois os anticoagulantes complexam o cálcio dando resultados errôneos.
A determinação na urina requer uma dieta prévia de pelo menos 3 dias livre de cálcio (eliminar leite e seus derivados).
A amostra se mantêm por uma semana refrigerada.

TÉCNICA
O material a ser utilizado, tubos de ensaio, ponteiras de micropipetas, pipetas, etc. devem estar rigorosamente limpos, livres de cálcio e de traços de anticoagulantes. Aconselhamos lavá-lo com detergente não iônico ou com solução diluída de ácido mineral, lavando após, várias vezes com água deionizada.

A técnica se caracteriza por Absorbâncias dos blanks muito baixas, leituras acima de 0,200 indicam contaminação grosseira por cálcio e os reativos devem ser desprezados.
Colocar em 2 tubos de ensaio, marcados P(padrão) e D (desconhecido):

	P	D
Reativo **CFX**	50 µL	50 µL
Reativo Tampão	3,5 mL	3,5 mL

Misturar, ler as Absorbâncias dos blanks internos BP e BD em Espectrofotômetro a 570 nm ou em Colorimetro com filtro vermelho (560-590 nm), zerando o aparelho com água deionizada. Logo após, agregar:

Padrão	20 µL	
Amostra		20 µL

Misturar, após 10 minutos repetir as leituras, P e D.

CÁLCULOS
Cálcio mg/dL = D-BD x f

onde, $f = \frac{10\ mg/dL}{P\text{-}BP}$

Os volumes dos Reativos, Padrão e Amostra, podem ser aumentados ou diminuídos conforme o aparelho utilizado, por exemplo:

Reativo CFX	20 µL
Reativo Tampão	1,5 mL
Padrão/Amostra	10 µL

DOSAGEM NA URINA
Coletar a urina de 24 horas (sobre 20 mL de HCL a 50%).
Completar a 2 litros com água deionizada. Homogeneizar e realizar a técnica como no soro empregando 20 µL desta amostra.

CÁLCULOS
Cálcio Urinário mg/24 horas = $\frac{D\text{-}BD}{P\text{-}BP}$ x 200 mg/24 horas

VALORES DE REFERÊNCIA
Soro = 8,5 a 10,5 mg/dL
Urina = 60 a 200 mg/24 horas

APRESENTAÇÃO
Kit suficiente para 70 a 125 reações

BIBLIOGRAFIA
1) Martineck, R.G. - J. Am. Med. Tech. 33:416 (1971).
2) Henry, R.J. - Clinical Chemistry, Principies and Techniques Harper & Row Publishers (1964).

REG. M.S. N.º 10246810027 REV. 01/02
LABORLAB PRODUTOS PARA LABORATÓRIOS LTDA. Estr.do Capão Bonito, 937 07263-010 – Guarulhos – SP CNPJ 72807043/0001-94
Fone: (11) 6480-1306 (Central de Atendimento ao Cliente) Resp. Tec.: Lígia Monaro da Silva CRBM 1ª Região N.º 2573

Anexo 3

CAT N.º 02000
Somente para
Uso in Vitro

FOSFATASE ALCALINA
MÉTODO CINÉTICO

LABORLAB

DEFINIÇÃO
A maior quantidade da enzima Fosfatase Alcalina está concentrada nos ossos e no fígado. Ela é também encontrada nos rins, intestino delgado e placenta, especialmente no final da gravidez. Ela é usada na diagnose de doenças dos ossos e fígado.

FISIOPATOLOGIA
A Fosfatase Alcalina aumenta nas doenças ósseas porque a produção de células é anormalmente aumentada. A Fosfatase Alcalina aumenta nos problemas do fígado porque ela não é excretada convenientemente pelo mesmo. Nas crianças especialmente adolescentes a Fosfatase Alcalina está aumentada devido ao crescimento dos ossos.

SIGNIFICADO CLÍNICO
Valores elevados : Icterícia obstrutiva, hepatite, cirrose, câncer do fígado, ossos, seios e próstata, Doença de Paget, osteíte deformante, mieloma múltiplo, gravidez (3º trimestre), etc.
Valores baixos: Cretinismo, deficiência de ácido ascórbico, anemia perniciosa, insuficiência placentária.

MÉTODO Cinético.

INTERFERÊNCIAS
Falsos valores elevados: Fenotiazinas, alopurinol, ergosterol, eritromicina, oxacilina, metiltestosterona, anticoncepcionais orais, metildopa, procainamida, tolbutamida, tolazamida, colchicina.
Falsos valores baixos: Fluoretos, oxalatos, fosfatos, vitamina D, propranolol.

LINEARIDADE E ESTABILIDADE DA REAÇÃO
A reação é linear até 1092 U/L (ΔA/min = 0,200), para valores superiores, diluir a amostra 1:5 ou 1:10 com solução fisiológica e repetir a reação, multiplicando o resultado final pelo fator de diluição utilizado (5 ou 10)
O reativo de trabalho é estável por uma semana refrigerado.
Quando sua leitura em absorbância em 405 nm, com água deionizada, for superior a 0,700, desprezar o kit, pois o mesmo estará deteriorado.

COMPOSIÇÃO DO KIT
Reativo Tampão CAT N.º 02001
Solução de dietanolamina 1 mmol/L pH=9,8(25°C).
Volume = 100 mL

Reativo Substrato CAT N.º 02002
p-nitrofenilfosfato de sódio
50 comprimidos

MATERIAL NÃO FORNECIDO (NECESSÁRIO)
Espectrofotômetro com:
Sensibilidade a 405 nm = 0,001A
Banda de passagem ≤ 10 nm
Luz espúria ≤ 0,5 %
Espessura da cubeta = 1,00 cm
Temperatura = ± 0,2°C
Micropipetas e pipetas capazes de medir os volumes indicados na técnica.
Tubos de ensaio.
Banho-maria à temperatura da reação.
Cronômetro.

PREPARAÇÃO DO REATIVO DE TRABALHO
Dissolver 1 comprimido de Reativo Substrato em 2 mL do Reativo Tampão, agitar suavemente até completa dissolução.

VIDA ÚTIL ARMAZENAMENTO
O kit é estável até a data do vencimento impresso na caixa, quando refrigerado.

PRECAUÇÕES
O kit não contém derivados de sangue humano, porém, considerar qualquer amostra de paciente como potencialmente infectante.
Evitar o contato direto com as amostras.
Não pipetar reagentes ou amostras com a boca .
Descartar as sobras das reações de acorda com as Boas Práticas de Laboratório em local próprio para materiais potencialmente infectantes

AMOSTRA
Obter soro da maneira usual. Os anticoagulantes tais como EDTA de sódio, oxalato, citrato e fluoreto, produzem inibição da atividade da Fosfatase Alcalina entre 50 e 90 %.

TÉCNICA
A DGKC recomenda 25°C, o Comitê de Enzima da SSCC sugere 37°C e a IFCC 30°C. Deve ser considerado que a maior temperatura se obtém maior sensibilidade mas, menor linearidade.
Com o Espectrofotômetro a 405 nm zerado com água deionizada em absorbância, pré incubar 1 mL do Reativo de Trabalho por alguns minutos à temperatura selecionada.
Adicionar 10 µL de amostra, misturar rapidamente e, colocar no aparelho, anotar a absorbância inicial Ao, disparar o cronômetro, anotar as absorbâncias **após exatos 1,2 e 3 minutos de Ao.** Subtrair cada leitura anotada da anterior e efetuar a média dos valores.

CÁLCULOS
Fosfatase Alcalina U/L = Δ A/min x 5460
Podem ser empregados outros volumes de Amostra/Reativo de trabalho desde que mantida a relação 1: 100.

VALORES DE REFERÊNCIA

	25°C	30°C	37°C
ADULTOS U/L	40 a 190	45 a 213	65 a 300
Crianças e adolescentes, U/L	até 400	até 450	até 645

APRESENTAÇÃO
Kit suficiente para o preparo de 100 mL de reativo de trabalho (100 x 1 mL).

BIBLIOGRAFIA
1. Bessey, O.A., Lowry, O.H.& Brock, M.J, J. Biol. Chem. 163,231 (1946)
2. Bowers, G. N. and McComb, R.B. Clin. Chem. 12,70(1966).3. McComb, R.B. & Bowers, G.N. Clin. Chem. 12/2:97 (1972).

REG. M. S N.º 10246810003 REV. 01/02
LABORLAB PRODUTOS PARA LABORATÓRIOS LTDA. Estr. do Capão Bonito, 937 07263-010 – Guarulhos – SP CNPJ 72807043/0001-94
Fone: (11) 6480-1306 (Central de Atendimento ao Cliente) Resp. Tec.: Lígia Monaro da Silva CRBM 1ª Região N.º 2573

Anexo 4

CAT N.º01700
Somente para
Uso in Vitro

FERRO
MÉTODO COLORIMÉTRICO

LABORLAB

DEFINIÇÃO
O teste é executado no soro sangüíneo para identificar o nível do metal necessário, que está presente em diminutas quantidades no corpo humano.

FISIOPATOLOGIA
O Ferro é utilizado na síntese da Hemoglobina. Após a ingestão o Ferro é absorvido no intestino e é ligado à Transferrina que o transporta para a medula óssea onde a Hemoglobina é produzida.

SIGNIFICADO CLÍNICO
Valores elevados - Anemia hemolítica perniciosa, deficiência de ácido fólico, intoxicações por chumbo, insuficiência hepática, talassemia, deficiência de piridoxina.

Valores baixos - Anemia ferropriva, câncer gastrointestinal, câncer do seio, insuficiência renal crônica, úlcera péptica, gravidez (20 a 40 semanas) recém-nascido com pouco peso.

INTERFERÊNCIAS
Valores falsamente elevados - Suplemento de Ferro, anticoncepcional oral, hemólise.

MÉTODO
Colorimétrico de Ponto Final.

LINEARIDADE E ESTABILIDADE DA REAÇÃO
A reação é linear até 500 µg/dL
A cor final da reação é estável entre 6 e 20 minutos.

COMPOSIÇÃO DO KIT
Reativo Padrão CAT 01701
Solução de íons de Fe III, equivalente a 100 µg/dL
Volume = 20 mL

Reativo PBTS CAT N.º 01702
Solução estabilizada de Piridil
Bis-fenil Triazina Sulfonato = 50 mmol/L
Volume = 7 mL

Reativo Tampão CAT N.º 01703
Solução de Succinato = 0,25 mmol/L, pH = 3,7
Volume = 200 mL

Reativo Redutor CAT N.º 01704
Ampola contendo Ácido Mercaptoacético a 70%
Volume = 3 mL

ATENÇÃO: O Reativo Redutor em contato com a pele causa graves queimaduras.

MATERIAL NÃO FORNECIDO (NECESSÁRIO)
Água deionizada (vide IMPORTANTE)
Espectrofotômetro ou Colorímetro.
Micropipetas e pipetas capazes de medir os volumes indicados na técnica. (vide IMPORTANTE)
Tubos de ensaios para o aparelho a ser utilizado.(vide IMPORTANTE)

PREPARAÇAO DO REATIVO TAMPÃO/REDUTOR
Transferir o conteúdo da Ampola do Reativo Redutor para o frasco do Reativo Tampão (verter o conteúdo da ampola diretamente sobre o Reativo Tampão), tampar o frasco, homogeneizar por inversão. Anotar no rótulo a data da preparação.
O Reativo Tampão/Redutor é estável por 1 ano refrigerado. Levá-lo a 18-30ºC antes de usar.

VIDA ÚTIL E ARMAZENAMENTO
O Kit é estável à temperatura ambiente até a data do seu vencimento impressa na caixa.

PRECAUÇÕES
O kit não contém derivados de sangue humano, porém, considerar qualquer amostra de paciente como potencialmente infectante. Evitar o contato direto com as amostras.
Não pipetar reagentes ou amostras com a boca .
Descartar as sobras das reações de acordo com as Boas Práticas de Laboratório em local próprio para materiais potencialmente infectantes.

IMPORTANTE

LIMPEZA DO MATERIAL
Todo o material a ser usado na técnica deve estar livre de Ferro. Deve- se deixar o mesmo submerso em uma solução de Ácido Clorídrico p.a a 10-15% por 6 horas, após, eliminar a acidez com numerosas lavagens com água deionizada (livre de Ferro).
Seca o material a no máximo 80ºC em estantes de aço inox ou revestidas de plástico.
O material assim tratado deve ser utilizado exclusivamente na determinação de Ferro.

ÁGUA DEIONIZADA
É fundamental o uso de água absolutamente livre de Ferro, tanto na lavagem do material como a utilizada no Blank de Reativos.
O ideal é água deionizada com condutividade menor que 0,02 µohms.

VALORES DE BLANKS ACEITÁVEIS
A leitura do Blank de Reativos em Absorbância não deve ser superior a 0,150 e a água deionizada deverá ter uma desprezível contribuição nesta leitura.
Para controlar esse Blank recomenda-se ler um Blank de Reativos (2 mL de Tampão/Redutor + 0,5 mL H20 + 1 gota do Reativo PBTS), contra um Blank de Tampão (2,5 mL de Tampão/Redutor + 1 gota do Reativo PBTS). **A leitura do Blank de Reativos deverá ser menor ou igual à leitura do Blank de Tampão, caso contrário substituir a água deionizada por outra de qualidade comprovada.**

AGITAÇÃO DOS TUBOS
Os tubos devem ser agitados suavemente, sem invertê-los para evitar contaminações.

AMOSTRA
Unicamente soro obtido da maneira usual, livre de hemólise e de glóbulos vermelhos. Os anticoagulantes interferem na reação.
O paciente deve estar em jejum e a coleta deve ser feita sempre no mesmo horário (preferencialmente pela manhã), pois, flutuações fisiológicas são significativas durante o dia.

TÉCNICA
Em 3 tubos de ensaio previamente preparados (vide IMPORTANTE), marcados B (Blank), P (Padrão) e D (Desconhecido) colocar:

	B	P	D
Água deionizada (Vide IMPORTANTE)	500 µL	-	-
Padrão	-	500 µL	-
Soro	-	-	500 µL
Tampão/Redutor	2 mL	2 mL	2 mL

Homogeneizar suavemente (sem inverter). Vide IMPORTANTE. Ler a Absorbância do Tubo D (Blank de Soro BD), em Espectrofotômetro a 560nm ou em Colorimetro com filtro verde (540-560nm), zerando o aparelho com água deionizada.
Colocar, mantendo o frasco conta-gotas em posição vertical, UMA GOTA do Reativo PBTS em cada tubo.
Misturar imediatamente cada tubo e ler todos eles em 560 nm entre 6 a 20 minutos, zerando o aparelho com água deionizada.

CÁLCULOS
Corrigir as leituras P e D, subtraindo os Blanks correspondentes:
P – B = P (corrigida)
D – (B + BD)= D (corrigida)
Ferro µg/dL = D (corrigida) x *f*

Onde:

$$f = \frac{100\ \mu g/dL}{(\text{P corrigida})}$$

VALORES DE REFERÊNCIA
De 60 até 160 µg/dL com a seguinte média de valores:
Homens = 114,6 µg/dL
Mulheres = 103,3 µg/dL

APRESENTAÇÃO:
Kit suficiente para 100 reações.

BIBLIOGRAFIA:
Dixon K - Ann.Clin.Biochern 10/5:127 (1973).
ICSH - AM.J.Clin.Path.56/4:543 (1971).

REG. M. S N.º 10246810020 REV. 01/02
LABORLAB PRODUTOS PARA LABORATÓRIOS LTDA. Estr.do Capão Bonito, 937 07263-010 – Guarulhos – SP CNPJ 72807043/0001-94
Fone: (11) 6480-1306 (Central de Atendimento ao Cliente) Resp. Tec.: Lígia Monaro da Silva CRBM 1ª Região N.º 2573

Anexo 5

III Fórum Nacional de Nutrição, realizado dia 24 de março de 2007, Rio de Janeiro.

RESSECÇÃO GÁSTRICA PARCIAL CAUSA DEPLEÇÃO DE FERRO EM RATOS

SANTOS, EF*; TSUBOI, KH*; FALCONI, MA**; PALU, BF**; ANDREOLLO, NA**; MIYASAKA, CK*

*Faculdade de Engenharia de Alimentos; **Faculdade de Ciências Médicas;

Unicamp – Campinas, SP – Brasil

Introdução: A ressecção gástrica é o principal tratamento do câncer gástrico, permitindo ao paciente um alívio dos sintomas e o restabelecimento da saúde. Vários autores consideram a anemia por deficiência de ferro uma freqüente complicação das ressecções gástricas. **Objetivo:** Avaliar o efeito da ressecção gástrica parcial no hemograma e ferro sérico de ratos gastrectomizados. **Materiais e Métodos:** Foram utilizados ratos machos da linhagem Wistar recém-desmamados. Ao atingir 250 g os animais foram gastrectomizados parcialmente, sendo a anastomose realizada com o jejuno. Após 15 dias em recuperação receberam dieta formulada AIN-93M. Para a análise do ferro sérico e hemograma as amostras de sangue foram coletadas em dois tempos: Antes da cirurgia e 8 semanas após o início da dieta experimental. O conteúdo de ferro sérico foi determinado por método colorimétrico disponível comercialmente (Kit Laborlab) em espectrofotômetro a 560 nm. O hematócrito e hemoglobina foi realizada em analisador hematológico Advia ™ 120 – Bayer®. Os dados foram submetidos à análise de variância ANOVA/teste Duncan's ($p<0,05$*). **Resultados:** A ressecção gástrica diminuiu o hematócrito dos animais (Inicial*: 44,2±0,5; Final*: 38,9±1,0). A hemoglobina antes da cirurgia apresentou-se maior (Inicial*: 14,7±0,1; Final*: 11,8±0,6). O ferro sérico diminuiu significativamente 8 semana após a ressecção gástrica (Inicial*: 222,5±10,4; Final*: 41,76±11,5). **Conclusão:** Através dos resultados encontrados conclui-se que a gastrectomia parcial com anastomose no jejuno tem um efeito relevante nesses parâmetros, deixando os animais particularmente vulneráveis a má absorção de ferro, comprovando a eficiência do nosso modelo experimental.

Palavras-chave: Ferro. Anemia. Hematócrito. Hemoglobina. Gastrectomia. Ratos.

Anexo 6

II SIMPÒSIO DO CBNF – Centro Brasileiro de Nutrição Funcional, que foi realizado de 19 a 21 de abril de 2007 no Centro de Eventos do Hotel Continental, Canela/RS.

EFEITO DA RESSECÇÃO GÁSTRICA PARCIAL NOS NÍVEIS DE CALCIO SÉRICO E URINÁRIO DE RATOS WISTAR.

SANTOS, EF[1]; TSUBOI, KH[1]; PALU, BF[2]; ANDREOLLO, NA[2]; MIYASAKA, CK[1]

[1]Departamento de Alimentos e Nutrição, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo.

[2]Departamento de cirurgia, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, Brasil.

Introdução: O cálcio é o mineral mais abundante no organismo, constitui cerca de 1,5 a 2% do peso corpóreo (1200g) e 39% dos minerais do corpo humano. O controle homeostático do cálcio envolve os processos de absorção, excreção, secreção e armazenamento no osso. **Objetivo:** O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da ressecção gástrica parcial nos níveis de cálcio sérico, urinário e fecal. **Materiais e Métodos:** Foram utilizados ratos machos da linhagem Wistar com 250 g que foram gastrectomizados (GXT) parcialmente, com anastomose ao jejuno. Após 15 dias em recuperação receberam dieta formulada AIN-93M por 60 dias (G1= GXT(-); G2=GXT(+). O conteúdo de cálcio sérico e urinário foi determinado por método colorimétrico disponível comercialmente (KIT LABORLAB) em espectrofotômetro a 570 nm. O cálcio fecal foi determinado por espectrometria de emissão. Os dados foram submetidos à análise de variância ANOVA/teste Duncan's ($p<0,05$*). **Resultados:** A gastrectomia diminuiu os níveis de cálcio sérico (G1*=7,28±0,34; G2*=6,10±0,44) e a excreção de cálcio urinário (G1*=134,10±9,27; G2*=94,68±9,62). O cálcio fecal não apresentou diferença significativa ($p<0,05$) (G1=61,13±1,81; G2=57,21±2,23). **Conclusão:** A ressecção parcial diminuiu os níveis de cálcio sérico e urinário e não altera a excreção de cálcio nas fezes. Os níveis baixos de cálcio urinário verificados podem ser devido a uma maior reabsorção tubular renal de cálcio, com o intuito de regular o cálcio sérico.

Anexo 7

II SIMPÒSIO DO CBNF – Centro Brasileiro de Nutrição Funcional, realizado de 19 a 21 de abril de 2007 no Centro de Eventos do Hotel Continental, Canela/RS.

POLIDEXTROSE POTENCIALIZA A ABSORÇÃO DE FERRO EM RATOS GASTRECTOMIZADOS

SANTOS, EF[1]; TSUBOI, KH[1]; FALCONI, MA[2]; PALU, BF[3]; ANDREOLLO, NA[3]; BAPTISTA, RCM[4]; PEREIRA, AC[4]; SILVA, CG[4]; MIYASAKA, CK[1]

[1]Departamento de Alimentos e Nutrição, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo.; [2]Hemocentro, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo.; [3]Departamento de cirurgia, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, Brasil.; [4]Laboratório Biominerais Análises Químicas Ltda, Campinas, São Paulo, Brasil.

Introdução: A gastrectomia é praticamente a principal forma de tratamento do câncer gástrico em certos estágios. No entanto a ausência da secreção ácida estomacal pode levar a anemia que ocorre em até 75% destes pacientes. Os carboidratos não digeríveis (alimentos funcionais) são fermentados no intestino, diminuindo o pH e aumentando a absorção de minerais. **Objetivo:** O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da suplementação de polidextrose (prebiótico) na absorção de ferro em ratos gastrectomizados. **Materiais e Métodos:** Foram utilizados ratos machos da linhagem Wistar com 250g que foram gastrectomizados (GXT) parcialmente, com anastomose ao jejuno. Após 15 dias em recuperação receberam dieta formulada contendo Polidextrose (POLI) (50g/kg de dieta) por 60 dias (G1=GXT(+) POLI (-); G2=GXT(+) POLI(+). Foram determinados a absorção aparente onde ferro fecal e da dieta foram determinados por espectrometria de emissão, o ferro sérico foi por método colorimétrico por espectrofotometria a 560 nm. Os dados foram submetidos à análise de variância ANOVA/teste Duncan's ($p<0,05$*). **Resultados:** Nos animais que receberam a polidextrose houve diminuição de excreção de fezes (G1*=0,53±0,01; G2*=0,44±0,01), aumento da absorção aparente de ferro (G1*=0,42±0,07; G2*=0,73±0,06) e aumento do ferro sérico (G1*=41,76±11,56; G2*=63,35±10,98). **Conclusão:** A suplementação de polidextrose aumentou a absorção de ferro.

Anexo 8

10th European Nutrition Conference, realizada de 10 a 13 de julho de 2007 / Paris – França

EFFETS OF THE SUPPLEMENTATION OF GALACTOOLIGOSACHARIDE AND/OR POLYDEXTROSE IN THE IRON METABOLISM IN GASTRECTOMIZED RATS

Elisvânia Freitas dos Santos[1], Kathia Hitomi Tsuboi[1], Claudia Cardoso Netto[1], Nelson Adami Andreollo[2], Celio Kenji Miyasaka[1]

[1]Department of Food and Nutrition, Food Engineering College, Campinas State University, São Paulo, Brazil

[2] Department of surgery, Doctors Sciences College, Campinas State University, São Paulo, Brazil

The gastric resection is the main treatment of the gastric cancer causing the depletion in the iron absorption and leading to anemia. Prebiotics functional foods can increase the absorption of this mineral improving its biodisponibility. The purpose this study is to compare the effect of the supplementation of galactooligosacharide and/or polydextrose in the iron metabolism in gastrectomized rats. The rats (200,0g) were gastrectomized (GXT) and 15 days after they received GOS (50g GOS/Kg diet), POLI (50g POLI/Kg diet) and/or GOS + POLI (25g GOS + 25g POLI/Kg diet) for 60 days (G1=GXT; G2=GXT+GOS; G3=GXT+POLI; G4=GXT+GOS+POLI) in formulated diet AIN-93M. The hematocrit, hemoglobin, seric iron were performed. The data were analyzed by two-way ANOVA/Duncan's test (p<0,05*). The POLI treatment increased hematocrit results (G1=38,9±1,0; G2=35,8±1,1; G3*=42,1±1,3; G4=39,8±1,2). The hemoglobin of the animals results of G3 and G4 treatments was increased (G1=11,8±0,6; G2=10,8±0,7; G3*=13,7±0,4; G4*=13,2±0,6). The administration of GOS+POLI (G4) enhanced the seric iron (G1=41,7±11,5; G2=48,6±6,5; G3=63,3±10,9; G4*=81,3±15,0). The treatment with POLI increased all of the hematological parameters, however, the association with GOS these results are more pronounced showing that this two compounds may be considered such as adjuvant to increase the absorption of minerals.