

JAQUELINE SANTOS MOREIRA LEITE

**Suplementação com L-glutamina livre ou como dipeptideo
atenua marcadores de resistencia à insulina e esteatose
hepática em camundongos ob/ob**

Tese apresentada ao programa de Pós-
graduação em Fisiologia Humana
Instituto de Ciências Biomédica da
Universidade de São Paulo, para
obtenção do título de Doutor em
Ciências

São Paulo

2020

JAQUELINE SANTOS MOREIRA LEITE

**Suplementação com L-glutamina livre ou como dipeptideo
atenua marcadores de resistencia à insulina e esteatose
hepática em camundongos ob/ob**

Tese apresentada ao programa de Pós-
graduação em Fisiologia Humana
Instituto de Ciências Biomédica da
Universidade de São Paulo, para
obtenção do título de Doutor em
Ciências

Área de concentração: Fisiologia
Humana

Orientador : Prof^o Dr Angelo Rafael
Carpinelli

Versão Corrigida

São Paulo

2020

CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
Serviço de Biblioteca e informação Biomédica
do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo

Ficha Catalográfica elaborada pelo(a) autor(a)

Leite, Jaqueline Santos Moreira
/ Jaqueline Santos Moreira Leite; orientador
Angelo Rafael Carpinelli. -- São Paulo, 2020.
88 p.

Tese (Doutorado) -- Universidade de São Paulo,
Instituto de Ciências Biomédicas.

1. Resistência à insulina. 2. Obesidade. 3.
Glutamina . 4. Inflamação. 5. Sistema Antioxidante.
I. Carpinelli, Angelo Rafael, orientador. II.
Título.



COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Cidade Universitária "Armando de Sales Oliveira", Butantã, São Paulo, SP - Av. Professor Lineu Prestes, 2415 - ICB III - 05508-000
CEUA-ICB/USP - Telefone (11) 3091-7733 - e-mail: cep@icb.usp.br

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado "*Estudo dos efeitos metabólicos, anti-inflamatórios e antioxidantes da suplementação com L-glutamina em camundongos obesos e resistentes à insulina*", registrado sob o protocolo nº **134/2015**, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal (CONCEA). Ante esta conformidade, o referido projeto foi avaliado e aprovado em **04/02/2016** pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (CEUA-ICB/USP), outorgando esta licença de uso de animais tem validade de **04 (quatro) anos** a partir da data de aprovação.

- Investigador Principal: **Dr.(a.) Angelo Rafael Carpinelli**

- Membros da Equipe: *Vinicius Fernandes Cruzat (Pós-doutorando), Jaqueline Santos Moreira Leite (Pós-graduando)*

Havendo interesse na renovação do projeto, a solicitação deverá ser protocolada pela Secretaria da CEUA-ICB/USP até o último dia de validade da atual proposta. Após esta data uma nova proposta deverá ser encaminhada.

CERTIFICATE

We hereby certify that the project entitled "*The metabolic, anti-inflammatory and antioxidant effects of L-glutamine supplementation on insulin resistant obese mice*", protocol nº **134/2015**, which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human), for scientific research purposes, is in accordance with the provisions of the Law nº 11.794 passed on October 8th, 2008, Decree nº 6899 passed on July 15th, 2009, and the rules issued by the National Council for Control and Animal Experimentation (CONCEA). According to this legislation, the project was evaluated and approved on **2/4/2016** by the ETHICS COMMITTEE ON ANIMAL USE, Institute of Biomedical Sciences, University of Sao Paulo (CEUA-ICB/USP), and the license for animal use is valid for **04 (four) years** from the date of approval.

- Principal Investigator: **Dr.(a.) Angelo Rafael Carpinelli**

- Team members: *Vinicius Fernandes Cruzat (Postdoctoral Researcher), Jaqueline Santos Moreira Leite (Graduate Student)*

If a renewal of the project is intended, the request must be submitted to the CEUA-ICB/USP secretary before the expiration of the current proposal. After this date, a new proposal must be prepared.

Espécie/Species	Linhagem/Strain	Sexo/Gender	Idade-Peso/ Age-Weight	Total
<i>Mus musculus</i>	C57BL/6	Macho/male	90 dias/days	50

Prof. Dr. Anderson de Sá Nunes
Coordenador CEUA-ICB/USP

Eliane Aparecida G. M. Nascimento
Secretária CEUA-ICB/USP

**“Dedico esta tese aos meus pais Vera
e José pois esse sonho também é
deles..”**

AGRADECIMENTOS

Muitas pessoas foram de grande importância para trilhar este caminho árduo. Primeiramente, não posso deixar de agradecer a Deus, Nossa Senhora e minhas intercessoras Santa Tereza da Rosas e Santa Tereza Davi'la, nos momentos mais difíceis eles que me carregaram.

A minha família, minha fortaleza: meus Pais Vera e José, meus irmãos Danilo, Murilo e Bruno, Meus tios Beto e Vânia, meus avôs Olinda, Nilson e Iracema pelo amor e incentivo incondicional para realizar este sonho, por entenderem a minha ausência e por me apoiarem em todos os momentos. Não posso esquecer dos amores da minha vida meus Sobrinhos: Felipe, Octavio, José Pedro, Marina, João Henrique, Joaquim, Vicente e Maria Cecilia.

Ao meu Orientador Prof. Dr. Angelo Carpinelli por me aceitar em seu laboratório, por todo ensinamento não só na parte científica mas os ensinamentos de vida. Com certeza é uma pessoa que levo de inspiração para profissão e para vida.

Ao meu amigo Prof. Dr. Vinicius por acreditar em mim desde o início quando pensei em fazer mestrado, por todo apoio, incentivo, ensinamentos, meu grande incentivador e inspirador neste anos de vida acadêmica.

Aos Professores Dr(s). José Donato Junior, Carla R. Oliveira, Fernando Abdukader Fernanda Ortis e Eduardo Rebelato por todo apoio e colaboração para execução desta pesquisa. A Técnica Marlene por toda ajuda e amizade durante essa jornada. Aos técnicos Bob e Gilson por toda ajuda no materiais de laboratório e os animais. Aos Colegas e amigos de laboratório pela ajuda, apoio e companheirismo nestes 4 anos, em especial aos amigos: Eloisa, Hilton, Ana Claudia, Angelo e Laiane. Em especial a Carolina, pela amizade verdadeira e companheirismo em todos os momentos de alegrias ou dificuldades, uma irmã que a USP me presentiu.

Aos meus amigos que sempre me incentivaram e muitas vezes entenderam minha ausência nestes anos entre mestrado e doutorado. O meu agradecimento especial a minha amiga Vanessa por me acolher em sua casa quando cheguei em São Paulo.

Agradecimento ao apoio as agencias: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 e verba PROEX (Programa de Excelência Acadêmica)", Fundação de amparo à pesquisa

(FAPESP) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) , processo-140118/2016-0.

A minha gratidão à todos que de alguma forma me ajudaram nesta jornada!

“Ando devagar, Porque já tive pressa,

E levo esse sorriso,

Porque já chorei demais

Hoje me sinto mais forte

Mais feliz, quem sabe

Só levo a certeza

De que muito pouco sei

Ou nada sei

Conhecer as manhas

E as manhãs

O sabor das massas

E das maçãs

É preciso amor

Pra poder pulsar

É preciso paz pra poder sorrir

É preciso a chuva para florir

Penso que cumprir a vida

Seja simplesmente

Compreender a marcha

E ir tocando em frente

Como um velho boiadeiro

Levando a boiada

Eu vou tocando os dias

Pela longa estrada, eu vou

Estrada eu sou....”

(Sater , A; Teixeira , R)

RESUMO

LEITE, JSM. Suplementação com L-glutamina livre ou como dipeptídeo atenua marcadores de resistência à insulina e esteatose hepática em camundongos ob/ob. 88p. Tese (Doutorado em Fisiologia humana)- Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, 2020.

Introdução: A obesidade é hoje um problema de saúde pública global, que leva à resistência periférica à insulina e, conseqüentemente, a um desequilíbrio da homeostase da glicose e morbidades associadas, como a doença hepática gordurosa. O aminoácido mais abundante no corpo, a glutamina, pode reduzir a resistência à insulina associada à obesidade. **Objetivo:** Avaliar os efeitos metabólicos, anti-inflamatórios e antioxidantes da suplementação de glutamina na sua forma livre e dipeptídica (DIP, L-alanil-L-glutamina) em camundongos Ob / Ob obesos e resistentes à insulina. **Métodos:** Camundongos da linhagem C57/BL6 adultos foram distribuídos em 5 grupos experimentais: WT (C57BL6, selvagem recebendo água), CTRL-Ob/Ob (Ob/Ob C57BL6, recebendo água), DIP (Ob/Ob C57BL6, suplementado com L-alanil-L-glutamina), GLN (Ob/Ob C57BL6, suplementado com L-glutamina livre) e ALA (Ob/Ob C57BL6, suplementado com L-alanina livre). O período de suplementação foi de 40 dias com solução contendo os suplementos a 4% na água de beber. Durante o experimento foram avaliados: a ingestão hídrica, o consumo de ração, o ganho de peso e efetuados o teste de tolerância à glicose (GTT) e à insulina (ITT). Após a eutanásia foram avaliadas as concentrações de insulina, triglicerídeos, colesterol total, concentração de glutamina e glutamato plasmáticos. No fígado e músculo esquelético foram avaliadas as concentrações de GSH, GSSG, TBARS, HSP-70 e AKTp308 Também foram determinadas a expressão gênica de enzimas do metabolismo lipídico no fígado e antioxidante e inflamatório no fígado e músculo. As diferenças estatísticas foram obtidas utilizando o teste de ANOVA *One-way*, com nível de significância de 5%. **Resultados:** Os resultados obtidos demonstraram que a suplementação com L-glutamina livre ou na forma de dipeptídeo aumentou os estoques da glutamina corporal e reduziu a resistência à insulina em camundongos Ob/Ob obesos e diabéticos. Estes efeitos são atribuídos ao aumento da capacidade antioxidante mediada pela GSH e NRF-2, pela citoproteção via HSP-70 e SIRT-1 e pela menor ativação de NFκ-B. Além disso, a suplementação com L-glutamina e L-alanina reduziram os triglicerídeos no plasma e no fígado via redução da expressão SRBP1-

c e as enzimas ACC e DGAT- α , além de reduzirem a secreção de insulina estimulada por alta concentração de glicose (16,7 mM).

Palavras-chave: Diabetes tipo 2, inflamação, sistema antioxidante, secreção de insulina

ABSTRACT

LEITE, J.S.M. Supplementation with free L-glutamine or as dipeptide attenuates markers of insulin resistance and hepatic steatosis in ob / ob mice. 88p. Thesis (Thesis in human physiology). The Institute of Biomedical Sciences of the University of São Paulo, 2020.

Introduction: Obesity is worldwide pandemic health problem that leads to peripheral insulin resistance and consequently to an imbalance of glucose homeostasis and associated morbidities, such as fatty liver disease. The most abundant amino acid in the body, glutamine might be reduced in obesity-associated insulin resistance which may compromise insulin secretion and action. **Objective:** To evaluate the metabolic, anti-inflammatory and antioxidant effects of glutamine supplementation in its free and dipeptide form (DIP, L-alanyl-L-glutamine) in obese and insulin-resistant Ob/Ob mice. **Methods:** C57/BL6 adult mice were distributed into five groups: wild type (WT, drinking water), control Ob/Ob (CTRL, drinking water), DIP Ob/Ob, free glutamine Ob/Ob (GLN, supplemented with free L-glutamine) and free alanine Ob/Ob (ALA, supplemented with free L-alanine). The supplements were offered in a 4% drinking water solution for 40 days prior to euthanasia and the total body weight gain, food and fluid intake were measured. Glucose and insulin tolerance test (GTT and ITT, respectively) were performed at the end of the 40 days of supplementation. After euthanasia, insulin, triglyceride, total cholesterol, glutamine and glutamate plasma concentrations were evaluated. In the liver and skeletal muscle, the concentrations of GSH, GSSG, TBARS, and HSP-70 were evaluated. The gene expression of lipid metabolism enzymes in the liver and antioxidant and inflammatory in the liver and muscle were also determined. The statistical differences were obtained using the One-Way ANOVA, with minimum difference of $P < 0.05$. **Results:** GLN and DIP increased glutamine stocks in the liver and skeletal muscle. GLN and DIP groups have shown a reduction in insulin resistance parameters. These effects were attributed to the increased antioxidant capacity mediated by GSH and NRF-2, cytoprotection mediated by HSP-70 and lower inflammatory profile associated with NF κ -B pathway. In addition, supplementation with L-glutamine and L-alanine reduced triglycerides in plasma and liver via reduced expression SRBP1-c and enzymes ACC and DGAT, in addition to reducing insulin secretion stimulated by high glucose concentration (16, 7mM). **Keywords:** Diabetes type 2; inflammation, oxidative stress, antioxidant system, insulin secretion

LISTA DE ABREVIATURAS

- AKT: Proteína quinase B
- ALA: Grupo L-alanina livre
- ALT: Alanina aminotransferase
- AST: Aspartato aminotransferase
- ChREBP: Proteína de ligação a elemento responsiva a carboidrato
- CTRL: Grupo controle obeso
- DIP: L-alanil- L-glutmaina
- DM: diabetes *melittus*
- DM2: diabetes *melittus* tipo 2
- EROs: Espécies reativas de oxigênio
- GDH :glutamato desidrogenase
- GLN: Grupo L- glutamina livre
- GLP-1: Peptideo semelhante a glucagon
- GSH: Glutaciona reduzida
- GSIS: *Glucose stimulated insulin secretion* - secreção de insulina estimulada pela glicose
- GSSG: Glutaciona oxidada
- GTT: Teste de tolerância à glicose
- HDL: Lipoproteína de alta densidade (*High density lipoprotein cholesterol*)
- HSF-1: Fator de choque térmico 1
- HSP: Proteína de choque térmico
- IL-1 β : Interleucina 1 beta
- IL-6: Interleucina 6
- IMC: Índice de massa corporal
- ITT: Teste de tolerância à insulina
- JNK: Jun N-terminal quinase
- MCP-1: Quimiotactante de monócitos 1
- MDA: malondialdeído
- MIP-1: Proteína inflamatória de macrófagos 1
- NaOH: Hidróxido de sódio
- NF-kB: Fator nuclear Kappa B

NOX: NADPH oxidase

NRF-2: Fator nuclear eritroide relacionado ao fator 2

PDK: Piruvato desidrogenase quinase

PGC-1 α : Receptor ativado por proliferador de peroxissoma 1 alfa

PPAR α : *Peroxisome proliferator-activated receptor*

RI: resistência à insulina

SIRT-1: Sirtuína 1

SOD: superóxido dismutase

SREBP-1c: Fator de transcrição de ligação ao elemento regulador de esterol 1

TBA: ácido tiobarbitúrico

TBARS: Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

TCA o ciclo do ácido tricarbóxico

TG: triglicerídeos

TLR4: Receptor do tipo Toll 4

TNF- α : fator de necrose tumoral

LISTA DE SIMBÓLOS

°C: graus ceusos

g: gramas

h: horas

H₂O₂: Peróxido de hidrogênio

L: Litros

mim: Minutos

Mg: miligramas

Mg/dL: Miligramas por decilitro

mL: mililitros

mM: milimolar

NaOH: Hidróxido de sódio

Na₂CO₃: Carbonato de sódio

ng/mL: nanograma por mililitro

nm: nanometros

O₂⁻: ânion superóxido

U/L: Unidade por litro

μl: microlitro

uM: micromolar

μmol: milimolar

% : porcento

1. INTRODUÇÃO

O estilo de vida não saudável, a baixa atividade física, o excesso de ingestão calórica e o consumo de dietas ricas em gorduras saturadas são os principais fatores que desencadeiam distúrbios metabólicos, tais como obesidade, diabetes melittus tipo 2 (DM2), dislipidemia e esteatose hepática não alcoólica ^{1; 2}. Atualmente vivemos uma pandemia de obesidade, que nos últimos quarenta anos aumentou cerca de quatro vezes. De acordo com OMS havia 100 milhões de obesos em 1975 que passou para 671 milhões em 2016, além de 1,3 bilhões de pessoas com sobrepeso ^{3; 4}.

As alterações metabólicas causadas pela obesidade promovem inflamação sistêmica e estresse oxidativo crônico, que contribuem para o desenvolvimento do DM2 e da esteatose hepática ^{5; 6; 7}. O DM2 é uma doença metabólica complexa e heterogênea na qual as interações entre fatores genéticos e ambientais resultam no desenvolvimento de graus variáveis de resistência à insulina (RI), disfunção das ilhotas pancreáticas e diminuição progressiva da resposta secretória de insulina ^{5; 8}, o que acarreta em desequilíbrio na homeostase glicêmica. Esse desequilíbrio é provocado principalmente pela elevada síntese de glicose pelo fígado, por causa da redução da insulina circulante e/ou resistência à mesma em tecidos periféricos, especialmente no fígado e músculos esqueléticos ⁹. A elevada síntese de glicose pelo fígado leva à esteatose hepática não alcoólica em aproximadamente 65-70% dos DM2. ^{10; 11}.

1.1. Estele oxidativo , inflamação na obesidade e DM2

Em obesos, o elevado consumo de alimentos com alta densidade energética, ricos em carboidratos simples e gorduras saturadas, geram eventos hiperglicêmicos, os quais promovem estresse oxidativo tanto nos tecidos periféricos quanto em ilhotas pancreáticas ¹². As alterações do estado redox ocorrem em decorrência do aumento da síntese mitocondrial de espécies reativas do oxigênio (EROs), glicosilação não enzimática de proteínas e auto-oxidação da glicose nos tecidos ¹³. O aumento dos radicais livres ativam mecanismos anti-oxidantes eficientes na regulação do estado redox tecidual, porém, eventualmente, não em condições de estresse.

O fator nuclear eritroide relacionado ao fator 2 (NRF-2) é o principal regulador da resposta adaptativa ao estresse oxidativo. Em concentrações normais, o NRF-2 é encontrado ligado à proteína citosólica Keap1. Quando há aumento nas EROs, são produzidas alterações conformacionais na proteína Keap1, havendo uma separação

entre a Keap1 e a NRF-2 e, esta última, transloca para o núcleo induzindo os genes alvo pela ligação ao ARE (elemento de resposta antioxidante) ¹⁴. A via Keap1-Nrf2-ARE é crucial na regulação de vários genes que expressam proteínas antioxidantes e citoprotetoras, tais como a glutathione S-transferase (GSTA), a superóxido dismutase (SOD), catalase e glutathione peroxidase (GPx)¹⁵. Cabe salientar que o NRF-2 também tem um importante papel na regulação do metabolismo dos lipídeos e da glicose e a sua inativação vem sendo correlacionada com aumento da resistência à insulina e esteatose hepática ^{1; 14; 16}.

É importante salientar que o principal antioxidante não enzimático do organismo, a glutathione (GSH), encontra-se reduzida tanto em indivíduos obesos quanto em indivíduos diabéticos, o que compromete a defesa antioxidante e o estado redox celular nestes indivíduos ^{17; 18}. Estudos demonstram que a concentração plasmática de GSH pode ser inversamente correlacionada com o IMC e a massa gorda ^{19; 20}. Além disso, a redução da GSH em indivíduos obesos e resistentes à insulina está diretamente envolvida com a disfunção da célula beta pancreática, resistência à insulina nos tecidos-alvo e esteatose hepática ²¹.

Na fisiopatologia da obesidade, o estresse oxidativo e a hipertrofia e hiperplasia do tecido adiposo estimulam a migração de macrófagos pró-inflamatórios, aumentando a síntese de citocinas inflamatórias, tais como fator de necrose tumoral (TNF- α), interleucina 6 (IL-6), interleucina 1 beta (IL-1 β) ^{5; 22; 23}. Além disso, o próprio estresse oxidativo promove a ativação de citocinas inflamatórias, tais como o TNF- α e a IL-6 ⁶. Na circulação, as citocinas inflamatórias podem se ligar ao receptor semelhante ao Toll do tipo 4 (TLR4) dos tecidos-alvo desencadeando a ativação de vias de sinalização, tais como o fator nuclear Kappa B (NF- κ B) ^{5; 24}. Em sua forma ativa, o NF- κ B promove o disparo da transcrição de genes que exercem funções essenciais na regulação da homeostasia celular ^{25; 26}. A ativação destas vias na obesidade representa um papel crítico para o desenvolvimento do DM2 e esteatose hepática em indivíduos obesos, principalmente por inativar os receptores de insulina nos tecidos-alvo ^{26; 27; 28}.

Outro fator relevante para a resistência à insulina em indivíduos obesos, são as alterações na função da proteína Sirtuína 1 (SIRT1) ¹⁷. Esta desacetilase de histona exerce um papel crucial na inflamação, principalmente por promover a desacetilação da subunidade p65 do NF- κ B em tecidos periféricos, promovendo a sua inativação ^{29; 30}. Além de atuar na regulação do metabolismo lipídico e da glicose ³¹. Por exemplo,

em camundongos *knockout* para SIRT-1, a ausência desta proteína acarreta em hiperglicemia, resistência à insulina e esteatose hepática devido ao aumento da gliconeogênese hepática. A SIRT-1 pode regular fatores de transcrição envolvidos com metabolismo lipídico tais como proteína 1 de ligação ao elemento regulador de esterol (SREBP-1c) e proteína de ligação ao elemento responsivo a carboidratos (ChREBP)³². A SIRT1 também está correlacionada com a expressão de proteínas de choque térmico (HSPs) ³³. As HSPs possuem um papel citoprotetor em todas as células do organismo e uma das famílias de HSPs mais estudadas são as proteínas de aproximadamente 70 kda (HSP-70, HSP-72 e HSP-73) ^{33; 34; 35}. A HSP-70 atua na modulação da resposta inflamatória e morte celular. Um estudo com animais *knockout* para HSP-72 demonstrou que a ausência desta proteína aumenta a adiposidade e reduz a sensibilidade à insulina por até 42 % no músculo esquelético, principalmente pela menor fosforilação da proteína AKT ³⁶. A HSP-72 também pode regular o fator de transcrição NFκB tanto nos tecidos periféricos, quanto nas ilhotas pancreáticas ³⁷.

1.2. Metabolismo proteico na obesidade e DM2: importância da glutamina

Em indivíduos obesos e diabéticos, as alterações no metabolismo proteico, principalmente pela maior oxidação de aminoácidos, pode reduzir a concentração da glutamina, o aminoácido mais abundante do organismo ³⁸. Tanto no plasma quanto nos tecidos, a concentração de glutamina é 10 a 100 vezes superior aos outros aminoácidos. No plasma a concentração de glutamina corresponde de 20% do total de aminoácidos livres na corrente sanguínea, variando entre 500 a 800 μM/L e nos tecidos representa de 40 a 60% do pool de aminoácidos ³⁹. O fígado, cérebro, pulmões, músculo esquelético e tecido adiposo sintetizam glutamina, a partir do glutamato com a catálise da enzima glutamina sintetase ^{39; 40}. Contudo, a mucosa intestinal, os leucócitos e as células dos túbulos renais, utilizam glutamina em grande quantidade em seu metabolismo, principalmente pela alta atividade da glutaminase expressa nesses tecidos ^{40; 41; 42}. Cabe salientar que em situações catabólicas, o fígado pode se tornar um local consumidor de glutamina e o músculo esquelético, principal tecido responsável pela síntese de glutamina, não consegue suprir a demanda de glutamina reduzindo a sua disponibilidade ^{39; 41}.

Assim, estudos recentes têm associado a redução de glutamina e da razão glutamina/glutamato no plasma com um maior risco de mortalidade e o desenvolvimento de doenças crônicas, como o DM2 ^{43; 44; 45}. A razão

glutamina/glutamato foi inversamente associada ao IMC, peso corporal, glicemia em jejum, insulina plasmática, índice HOMA e triglicérides, e além de estar positivamente associada a maiores concentrações de HDL ⁴⁵. Este fato pode ser particularmente importante, uma vez que estudos tanto em modelos animais ^{46; 47} quanto em seres humanos ^{48; 49} tem demonstrado que a glutamina possui propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes e citoprotetoras. Nesse sentido, os efeitos da suplementação com L-glutamina têm sido investigados como uma alternativa nutricional para restaurar a concentração de glutamina corporal, modular respostas inflamatórias e atenuar o estresse oxidativo em situações de elevado catabolismo ^{49; 50; 51}.

Dentre as alternativas de suplementação com L-glutamina, a utilização de dipeptídeos tais como a L-alanil-L-glutamina (DIP) tem sido recomendada em situações de elevado estresse metabólico ⁵². Contudo, mais recentemente foi demonstrado que tanto o DIP quanto a solução contendo L-glutamina e L-alanina na forma livre são eficazes em restaurar a concentração de glutamina corporal, tendo efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes. Além disso, uma maior capacidade de citoproteção foi observada através da expressão de HSPs nos tecidos periféricos ^{35; 46; 47; 53; 54; 55; 56}. Estes resultados indicam um possível papel da L-alanina no metabolismo da glutamina por meio de sua transaminação em diversos tecidos ⁴⁷.

Outra via na qual a suplementação com L-glutamina pode melhorar a capacidade antioxidante está relacionada à expressão de NRF-2. Em dois estudos, a maior disponibilidade de glutamina em células intestinais se correlacionou com o aumento da expressão de NRF-2 e maior disponibilidade de GSH ^{57; 58}. Entretanto, a literatura não apresenta estudos verificando se os efeitos antioxidantes da suplementação com L-glutamina atuam por meio desta via do NRF-2 no desenvolvimento de DM2 em indivíduos obesos.

Os efeitos da suplementação crônica com L-glutamina ou L-alanina também foram estudados em ratos obesos e resistentes à insulina em dieta hiperlipídica ⁵⁹. Nesse trabalho, somente a suplementação com L-glutamina aumentou a sua concentração plasmática e atenuou a RI no músculo esquelético e no fígado. Porém, a suplementação com L-glutamina induziu uma RI no tecido adiposo branco. Em estudo recente utilizando camundongos da linhagem B6.129SF2/J obesos induzidos por dieta hiperlipídica, a suplementação com L-glutamina livre ou com dipeptídeo não alterou os parâmetros de resistência à insulina e citoproteção (HSP-70). Porém, de

acordo com os autores, os camundongos da linhagem B6.129SF2/J são mais resistentes aos efeitos causados pela dieta hiperlipídica por mecanismos que podem incluir a adaptação intestinal, o que reduz a absorção de nutrientes, incluindo aminoácidos ⁶⁰. Porém em humanos, a suplementação com L-glutamina durante quatro semanas em mulheres obesas ou com sobrepeso, diminuiu cerca de 20% a insulinemia e o índice HOMA-IR ⁶¹. A partir de estudos *in vitro* com linhagem de células beta pancreáticas submetidas à estímulo com macrófagos humanos obesos, foi sugerido que a maior oferta de L-glutamina através da utilização do DIP mantém normalizada a secreção de insulina, devido à maior proteção anti-inflamatória e antioxidante, bem como um menor estresse de retículo e da disfunção mitocondrial via sistema NOX ³³. No entanto, até o presente momento, não foram encontrados na literatura estudos verificando estes efeitos em modelos animais.

Neste sentido, este estudo avaliou o efeito da suplementação com L-glutamina livre ou como dipeptídeo poderia ser um agente terapêutico para atenuar o estresse oxidativo, inflamação e conseqüentemente diminuir as comorbidades causadas pela obesidade tais como: a resistência periférica à insulina e regular secreção de insulina e esteatose hepática.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar os efeitos da suplementação oral crônica com L-glutamina livre e na forma de dipeptídeo (L-alanil-L-glutamina) sobre a resistência à insulina em camungos Ob/Ob.

2.2. Objetivos específicos

- Avaliar os efeitos da suplementação com L-glutamina na homeostasia da glicose.
- Avaliar os efeitos da suplementação com L-glutamina no o sistema antioxidante e eixo glutamina-glutathione.
- Avaliar os efeitos da suplementação com L-glutamina na resposta inflamatória.
- Avaliar os efeitos da suplementação com L-glutamina na resposta citoprotetora mediada pela via da HSP70.
- Avaliar os efeitos da suplementação com L-glutamina no metabolismo lipídico hepático.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo demonstraram que as suplementações com L-glutamina livre ou como dipeptídeo em modelo animal de obesidade e RI reduz a glicemia basal, resistência periférica à insulina e quadro de hiperinsulinemia. Adicionalmente, a suplementação com L-glutamina e/ou L-alanina demonstrou atuar no metabolismo lipídico reduzindo a esteatose hepática. Este efeito foi mediado pela maior translocação do NRF-2 e eixo glutamina/glutathione, reduzindo a inflamação mediada pela via do NF- κ B e aumentando a citoproteção através da via da HSP-70 no fígado e músculo esquelético.

Este estudo representa um avanço para pesquisa com suplementação com L-glutamina como um agente coadjuvante terapêutico em obesos e RI. Entretanto, por se tratar de um estudo experimental, novos estudos em humanos são necessários a fim de confirmar os efeitos terapêuticos, bem como a quantidade e frequência de administração de glutamina em pacientes obesos e RI.

8.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 DEVARSHI, P. P.; MCNABNEY, S. M.; HENAGAN, T. M. Skeletal Muscle Nucleo-Mitochondrial Crosstalk in Obesity and Type 2 Diabetes. **Int J Mol Sci**, v. 18, n. 4, Apr 2017. ISSN 1422-0067. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28420087> >.
- 2 KEANE, K. N. et al. Molecular Events Linking Oxidative Stress and Inflammation to Insulin Resistance and β -Cell Dysfunction. **Oxid Med Cell Longev**, v. 2015, p. 181643, 2015. ISSN 1942-0994. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26257839> >.
- 3 JAACKS, L. M. et al. The obesity transition: stages of the global epidemic. **Lancet Diabetes Endocrinol**, v. 7, n. 3, p. 231-240, Mar 2019. ISSN 2213-8595. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30704950> >.
- 4 ASRANI, S. K. et al. Burden of liver diseases in the world. **J Hepatol**, v. 70, n. 1, p. 151-171, 01 2019. ISSN 1600-0641. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30266282> >.
- 5 KEANE, K. N. et al. **Molecular events linking oxidative stress and inflammation to insulin resistance and β -cell dysfunction**: no prelo 2015.
- 6 PRADHAN, A. Obesity, metabolic syndrome, and type 2 diabetes: inflammatory basis of glucose metabolic disorders. **Nutr Rev**, v. 65, n. 12 Pt 2, p. S152-6, Dec 2007. ISSN 0029-6643 (Print)0029-6643 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18240540> >.Disponível em: < <http://onlinelibrary.wiley.com/store/10.1111/j.1753-4887.2007.tb00354.x/asset/j.1753-4887.2007.tb00354.x.pdf?v=1&t=hjgol8te&s=15652a76fec01df9b957022b14fb47be82a13d16> >.
- 7 JUNG, U. J.; CHOI, M. S. Obesity and its metabolic complications: the role of adipokines and the relationship between obesity, inflammation, insulin resistance, dyslipidemia and nonalcoholic fatty liver disease. **Int J Mol Sci**, v. 15, n. 4, p. 6184-223, Apr 2014. ISSN 1422-0067. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24733068> >.
- 8 ASSOCIATION, A. D. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: **Diabetes Care**, v. 43, n. Suppl 1, p. S14-S31, Jan 2020. ISSN 1935-5548. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31862745> >.
- 9 NEWSHOLME, P.; DE BITTENCOURT, P. I., JR. The fat cell senescence hypothesis: a mechanism responsible for abrogating the resolution of

- inflammation in chronic disease. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**, v. 17, n. 4, p. 295-305, Jul 2014. ISSN 1473-6519 (Electronic)1363-1950 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24878874> >.
- 10 KOO, S. H. Nonalcoholic fatty liver disease: molecular mechanisms for the hepatic steatosis. **Clin Mol Hepatol**, v. 19, n. 3, p. 210-5, Sep 2013. ISSN 2287-285X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24133660> >.
- 11 GEISLER, C. E.; RENQUIST, B. J. Hepatic lipid accumulation: cause and consequence of dysregulated glucoregulatory hormones. **J Endocrinol**, v. 234, n. 1, p. R1-R21, Jul 2017. ISSN 1479-6805. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28428362> >.
- 12 NEWSHOLME, P. et al. Reactive oxygen and nitrogen species generation, antioxidant defenses, and β -cell function: a critical role for amino acids. **J Endocrinol**, v. 214, n. 1, p. 11-20, Jul 2012. ISSN 1479-6805. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22547566> >.
- 13 _____. Nutrient regulation of insulin secretion and action. **J Endocrinol**, v. 221, n. 3, p. R105-20, Jun 2014. ISSN 1479-6805 (Electronic)0022-0795 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24667247> >.
- 14 MORALES-GONZÁLEZ, J. A. et al. What is Known Regarding the Participation of Factor Nrf-2 in Liver Regeneration? **Cells**, v. 4, n. 2, p. 169-77, May 2015. ISSN 2073-4409. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26010752> >.
- 15 JIMÉNEZ-OSORIO, A. S.; GONZÁLEZ-REYES, S.; PEDRAZA-CHAVERRI, J. Natural Nrf2 activators in diabetes. **Clin Chim Acta**, v. 448, p. 182-192, Jul 2015. ISSN 1873-3492. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26165427> >.
- 16 MATZINGER, M.; FISCHHUBER, K.; HEISS, E. H. Activation of Nrf2 signaling by natural products-can it alleviate diabetes? **Biotechnol Adv**, v. 36, n. 6, p. 1738-1767, 11 2018. ISSN 1873-1899. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29289692> >.
- 17 CALABRESE, V. et al. Oxidative stress, glutathione status, sirtuin and cellular stress response in type 2 diabetes. **Biochim Biophys Acta**, v. 1822, n. 5, p. 729-36, May 2012. ISSN 0006-3002. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22186191> >.
- 18 SADI, G.; BOZAN, D.; YILDIZ, H. B. Redox regulation of antioxidant enzymes: post-translational modulation of catalase and glutathione peroxidase activity by

resveratrol in diabetic rat liver. **Mol Cell Biochem**, v. 393, n. 1-2, p. 111-22, Aug 2014. ISSN 1573-4919. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24740756> >.

19 ELSHORBAGY, A. K. et al. The association of fasting plasma sulfur-containing compounds with BMI, serum lipids and apolipoproteins. **Nutr Metab Cardiovasc Dis**, v. 22, n. 12, p. 1031-8, Dec 2012. ISSN 1590-3729. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21550220> >.

20 _____. The association of cysteine with obesity, inflammatory cytokines and insulin resistance in Hispanic children and adolescents. **PLoS One**, v. 7, n. 9, p. e44166, 2012. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22984471> >.

21 TIWARI, B. K. et al. Markers of Oxidative Stress during Diabetes Mellitus. **J Biomark**, v. 2013, p. 378790, 2013. ISSN 2090-8660. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26317014> >.

22 PATSOURIS, D. et al. Insulin resistance is associated with MCP1-mediated macrophage accumulation in skeletal muscle in mice and humans. **PLoS One**, v. 9, n. 10, p. e110653, 2014. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25337938> >.

23 XU, L. et al. Roles of Chemokines and Chemokine Receptors in Obesity-Associated Insulin Resistance and Nonalcoholic Fatty Liver Disease. **Biomolecules**, v. 5, n. 3, p. 1563-79, 2015. ISSN 2218-273X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26197341> >.

24 GUO, S. Insulin signaling, resistance, and the metabolic syndrome: insights from mouse models into disease mechanisms. **J Endocrinol**, v. 220, n. 2, p. T1-T23, Feb 2014. ISSN 1479-6805. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24281010> >.

25 SILVEIRA, E. M. et al. Acute exercise stimulates macrophage function: possible role of NF-kappaB pathways. **Cell Biochem Funct**, v. 25, n. 1, p. 63-73, Jan-Feb 2007. ISSN 0263-6484 (Print)0263-6484 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16906627> >.

26 KHODABANDEHLOO, H. et al. Molecular and cellular mechanisms linking inflammation to insulin resistance and β -cell dysfunction. **Transl Res**, v. 167, n. 1, p. 228-56, Jan 2016. ISSN 1878-1810. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26408801> >.

- 27 SABIO, G.; DAVIS, R. J. cJun NH2-terminal kinase 1 (JNK1): roles in metabolic regulation of insulin resistance. **Trends Biochem Sci**, v. 35, n. 9, p. 490-6, Sep 2010. ISSN 0968-0004. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20452774> >.
- 28 MILIĆ, S.; LULIĆ, D.; ŠTIMAC, D. Non-alcoholic fatty liver disease and obesity: biochemical, metabolic and clinical presentations. **World J Gastroenterol**, v. 20, n. 28, p. 9330-7, Jul 2014. ISSN 2219-2840. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25071327> >.
- 29 PREYAT, N.; LEO, O. Sirtuin deacylases: a molecular link between metabolism and immunity. **J Leukoc Biol**, v. 93, n. 5, p. 669-80, May 2013. ISSN 1938-3673. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23325925> >.
- 30 ZHOU, S.; TANG, X.; CHEN, H. Z. Sirtuins and Insulin Resistance. **Front Endocrinol (Lausanne)**, v. 9, p. 748, 2018. ISSN 1664-2392. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30574122> >.
- 31 LIANG, F.; KUME, S.; KOYA, D. SIRT1 and insulin resistance. **Nat Rev Endocrinol**, v. 5, n. 7, p. 367-73, Jul 2009. ISSN 1759-5037. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19455179> >.
- 32 DING, R. B.; BAO, J.; DENG, C. X. Emerging roles of SIRT1 in fatty liver diseases. **Int J Biol Sci**, v. 13, n. 7, p. 852-867, 2017. ISSN 1449-2288. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28808418> >.
- 33 CRUZAT, V. F. et al. Alanyl-glutamine improves pancreatic β -cell function following ex vivo inflammatory challenge. **J Endocrinol**, v. 224, n. 3, p. 261-71, Mar 2015. ISSN 1479-6805. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25550445> >.
- 34 HENSTRIDGE, D. C. et al. Activating HSP72 in rodent skeletal muscle increases mitochondrial number and oxidative capacity and decreases insulin resistance. **Diabetes**, v. 63, n. 6, p. 1881-94, Jun 2014. ISSN 1939-327X (Electronic)0012-1797 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24430435> >. Disponível em: < <http://diabetes.diabetesjournals.org/content/63/6/1881.long> >. Disponível em: < <http://diabetes.diabetesjournals.org/content/63/6/1881.full.pdf> >.
- 35 RAIZEL, R. et al. Determination of the anti-inflammatory and cytoprotective effects of l-glutamine and l-alanine, or dipeptide, supplementation in rats submitted to resistance exercise. **Br J Nutr**, v. 116, n. 3, p. 470-9, Aug 2016. ISSN 1475-2662. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27215379> >.

- 36 DREW, B. G. et al. HSP72 is a mitochondrial stress sensor critical for Parkin action, oxidative metabolism, and insulin sensitivity in skeletal muscle. **Diabetes**, v. 63, n. 5, p. 1488-505, May 2014. ISSN 1939-327X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24379352> >.
- 37 GEIGER, P. C.; GUPTE, A. A. Heat shock proteins are important mediators of skeletal muscle insulin sensitivity. **Exerc Sport Sci Rev**, v. 39, n. 1, p. 34-42, Jan 2011. ISSN 1538-3008. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21088604> >.
- 38 MENGE, B. A. et al. Selective amino acid deficiency in patients with impaired glucose tolerance and type 2 diabetes. **Regul Pept**, v. 160, n. 1-3, p. 75-80, Feb 25 2010. ISSN 1873-1686 (Electronic)0167-0115 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19695292> >. Disponível em: < http://ac.els-cdn.com/S0167011509001827/1-s2.0-S0167011509001827-main.pdf?_tid=f38008fa-b1bb-11e2-af2c-00000aab0f26&acdnat=1367343337_725119ba5eaf27c04d8282ec91a12650 >.
- 39 CRUZAT, V. et al. Glutamine: Metabolism and Immune Function, Supplementation and Clinical Translation. **Nutrients**, v. 10, n. 11, Oct 2018. ISSN 2072-6643. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30360490> >.
- 40 CURI, R. et al. Glutamine, gene expression, and cell function. **Frontiers in Bioscience**, v. 12, p. 344-357, Jan 1 2007. ISSN 1093-9946. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000243745000025 >.
- 41 CRUZAT, V. F.; PETRY, E. R.; TIRAPEGUI, J. Glutamine: Biochemical, Metabolic, Molecular Aspects and Supplementation. **Revista Brasileira De Medicina Do Esporte**, v. 15, n. 5, p. 392-397, Sep-Oct 2009. ISSN 1517-8692. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000271570600015 >. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-86922009000600015&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt >.
- 42 NEWSHOLME, P. et al. Glutamine and glutamate as vital metabolites. **Braz J Med Biol Res**, v. 36, n. 2, p. 153-63, Feb 2003. ISSN 0100-879X (Print)0100-879X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12563517> >. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/bjmr/v36n2/4678.pdf> >.
- 43 CHENG, S. et al. Metabolite profiling identifies pathways associated with metabolic risk in humans. **Circulation**, v. 125, n. 18, p. 2222-31, May 2012.

ISSN 1524-4539. Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22496159> >.

- 44 TAI, E. S. et al. Insulin resistance is associated with a metabolic profile of altered protein metabolism in Chinese and Asian-Indian men. **Diabetologia**, v. 53, n. 4, p. 757-67, Apr 2010. ISSN 1432-0428. Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20076942> >.
- 45 MA, W. et al. Dietary glutamine, glutamate and mortality: two large prospective studies in US men and women. **Int J Epidemiol**, Nov 2017. ISSN 1464-3685. Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29140419> >.
- 46 CRUZAT, V. F. et al. Oral supplementations with free and dipeptide forms of L-glutamine in endotoxemic mice: effects on muscle glutamine-glutathione axis and heat shock proteins. **J Nutr Biochem**, v. 25, n. 3, p. 345-52, Mar 2014. ISSN 1873-4847 (Electronic)0955-2863 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24524905> >.
- 47 LEITE, J. S. et al. L-glutamine and L-alanine supplementation increase glutamine-glutathione axis and muscle HSP-27 in rats trained using a progressive high-intensity resistance exercise. **Appl Physiol Nutr Metab**, v. 41, n. 8, p. 842-849, Aug 2016. ISSN 1715-5320. Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27447686> >.
- 48 ZUHL, M. et al. The effects of acute oral glutamine supplementation on exercise-induced gastrointestinal permeability and heat shock protein expression in peripheral blood mononuclear cells. **Cell Stress Chaperones**, v. 20, n. 1, p. 85-93, Jan 2015. ISSN 1466-1268. Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25062931> >.
- 49 BORGES-SANTOS, M. D. et al. Plasma glutathione of HIV⁺ patients responded positively and differently to dietary supplementation with cysteine or glutamine. **Nutrition**, v. 28, n. 7-8, p. 753-6, Jul 2012. ISSN 1873-1244. Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22261571> >.
- 50 KIM, M.; WISCHMEYER, P. E. Glutamine. **World Rev Nutr Diet**, v. 105, p. 90-6, 2013. ISSN 1662-3975 (Electronic)0084-2230 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23075590> >. Disponível em: <
<http://www.karger.com/Article/PDF/341276> >. Disponível em: <
<http://www.karger.com/Article/Abstract/341276> >.
- 51 NEWSHOLME, P. Why is L-glutamine metabolism important to cells of the immune system in health, postinjury, surgery or infection? **J Nutr**, v. 131, n. 9 Suppl, p. 2515S-22S; discussion 2523S-4S, Sep 2001. ISSN 0022-3166

- (Print)0022-3166 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11533304> >.
- 52 CRUZAT, V. F.; KRAUSE, M.; NEWSHOLME, P. Amino acid supplementation and impact on immune function in the context of exercise. **J Int Soc Sports Nutr**, v. 11, n. 1, p. 61, 2014. ISSN 1550-2783. Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25530736> >.
- 53 PETRY, E. R. et al. Alanyl-glutamine and glutamine plus alanine supplements improve skeletal redox status in trained rats: involvement of heat shock protein pathways. **Life Sci**, v. 94, n. 2, p. 130-6, Jan 17 2014. ISSN 1879-0631 (Electronic)0024-3205 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24269578> >.
- 54 CRUZAT, V. F.; ROGERO, M. M.; TIRAPGUI, J. Effects of supplementation with free glutamine and the dipeptide alanyl-glutamine on parameters of muscle damage and inflammation in rats submitted to prolonged exercise. **Cell Biochemistry and Function**, v. 28, n. 1, p. 24-30, Jan 2010. ISSN 0263-6484. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000273691200003 >. Disponível em: <
<http://onlinelibrary.wiley.com/store/10.1002/cbf.1611/asset/1611ftp.pdf?v=1&t=he4tkzzb&s=5d1031f7f1715e408cf8e017cea8c3d3718ca87d> >.
- 55 PETRY, E. R. et al. L-glutamine Supplementations Enhance Liver Glutamine-Glutathione Axis and Heat Shock Factor-1 Expression in Endurance-Exercise Trained Rats. **Int J Sport Nutr Exerc Metab**, v. 25, n. 2, p. 188-97, Apr 2015. ISSN 1543-2742 (Electronic)1526-484X (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25202991> >.
- 56 CRUZAT, V. F. et al. Oral free and dipeptide forms of glutamine supplementation attenuate oxidative stress and inflammation induced by endotoxemia. **Nutrition**, v. 30, n. 5, p. 602-11, May 2014. ISSN 1873-1244 (Electronic)0899-9007 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24698353> >.
- 57 RAGHUPATHY, V. et al. Enteral glutamine differentially regulates Nrf 2 along the villus-crypt axis of the intestine to enhance glutathione levels. **J Gastroenterol Hepatol**, Jun 2015. ISSN 1440-1746. Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26095579> >.
- 58 WANG, A. L. et al. Glutamine ameliorates intestinal ischemia-reperfusion Injury in rats by activating the Nrf2/Are signaling pathway. **Int J Clin Exp Pathol**, v. 8, n. 7, p. 7896-904, 2015. ISSN 1936-2625. Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26339354> >.

- 59 PRADA, P. O. et al. L-glutamine supplementation induces insulin resistance in adipose tissue and improves insulin signalling in liver and muscle of rats with diet-induced obesity. **Diabetologia**, v. 50, n. 9, p. 1949-59, Sep 2007. ISSN 0012-186X (Print)0012-186X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17604977> >. Disponível em: < <http://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs00125-007-0723-z.pdf> >.
- 60 BOCK, P. M. et al. Oral supplementations with L-glutamine or L-alanyl-L-glutamine do not change metabolic alterations induced by long-term high-fat diet in the B6.129F2/J mouse model of insulin resistance. **Mol Cell Biochem**, v. 411, n. 1-2, p. 351-62, Jan 2016. ISSN 1573-4919. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26530165> >.
- 61 LAVIANO, A. et al. Glutamine supplementation favors weight loss in nondieting obese female patients. A pilot study. **Eur J Clin Nutr**, v. 68, n. 11, p. 1264-6, Nov 2014. ISSN 1476-5640. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25226827> >.
- 62 BARROS, C. C. et al. Efficient method for obtaining Lep(ob)/Lep(ob)-derived animal models using adipose tissue transplantations. **Int J Obes (Lond)**, v. 33, n. 8, p. 938-44, Aug 2009. ISSN 1476-5497. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19528967> >.
- 63 LACY, P. E.; KOSTIANOVSKY, M. Method for the isolation of intact islets of Langerhans from the rat pancreas. **Diabetes**, v. 16, n. 1, p. 35-9, Jan 1967. ISSN 0012-1797 (Print)0012-1797 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5333500> >. Disponível em: < <http://diabetes.diabetesjournals.org/content/16/1/35.full.pdf> >.
- 64 KINASIEWICZ, A. et al. Pancreatic islets isolation using different protocols with in situ flushing and intraductal collagenase injection. **Physiol Res**, v. 53, n. 3, p. 327-33, 2004. ISSN 0862-8408 (Print)0862-8408 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15209541> >.
- 65 LUND , P. Determination of glutamine with glutaminase and glutamate dehydrogenase. **Methods of Enzymatic Analysis**, p. . 357-363, 1985.
- 66 DRAPER, H. H.; HADLEY, M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. **Methods Enzymol**, v. 186, p. 421-31, 1990. ISSN 0076-6879 (Print)0076-6879 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2233309> >.
- 67 FOLCH, J.; LEES, M.; SLOANE STANLEY, G. H. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. **J Biol Chem**, v.

- 226, n. 1, p. 497-509, May 1957. ISSN 0021-9258. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13428781> >.
- 68 VAN DER VIES, J. Two methods for the determination of glycogen in liver. **Biochem J**, v. 57, n. 3, p. 410-6, Jul 1954. ISSN 0264-6021. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13181850> >.
- 69 LAEMMLI, U. K.; BEGUIN, F.; GUJER-KELLENBERGER, G. A factor preventing the major head protein of bacteriophage T4 from random aggregation. **J Mol Biol**, v. 47, n. 1, p. 69-85, Jan 14 1970. ISSN 0022-2836 (Print)0022-2836 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5413343> >.
- 70 CATTAPRETA, M. et al. A critical analysis of three quantitative methods of assessment of hepatic steatosis in liver biopsies. **Virchows Arch**, v. 459, n. 5, p. 477-85, Nov 2011. ISSN 1432-2307. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21901430> >.
- 71 MEHLEM, A. et al. Imaging of neutral lipids by oil red O for analyzing the metabolic status in health and disease. **Nat Protoc**, v. 8, n. 6, p. 1149-54, Jun 2013. ISSN 1750-2799. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23702831> >.
- 72 COBBINA, E.; AKHLAGHI, F. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) - pathogenesis, classification, and effect on drug metabolizing enzymes and transporters. **Drug Metab Rev**, v. 49, n. 2, p. 197-211, May 2017. ISSN 1097-9883. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28303724> >.
- 73 HU, M. et al. Steatosis and NASH in type 2 diabetes. **Biochimie**, Oct 2017. ISSN 1638-6183. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29097281> >.
- 74 GOMES, E. C.; SILVA, A. N.; DE OLIVEIRA, M. R. Oxidants, antioxidants, and the beneficial roles of exercise-induced production of reactive species. **Oxid Med Cell Longev**, v. 2012, p. 756132, 2012. ISSN 1942-0994 (Electronic). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22701757> >.
- 75 RUTTEN, E. P. et al. Skeletal muscle glutamate metabolism in health and disease: state of the art. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**, v. 8, n. 1, p. 41-51, Jan 2005. ISSN 1363-1950 (Print)1363-1950 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15585999> >.
- 76 CHARTOUMPEKIS, D. V. et al. Hepatic gene expression profiling in Nrf2 knockout mice after long-term high-fat diet-induced obesity. **Oxid Med Cell**

- Longev**, v. 2013, p. 340731, 2013. ISSN 1942-0994. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23710285> >.
- 77 ROGERO, M. M.; CALDER, P. C. Obesity, Inflammation, Toll-Like Receptor 4 and Fatty Acids. **Nutrients**, v. 10, n. 4, Mar 2018. ISSN 2072-6643. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29601492> >.
- 78 GIRIDHARAN, S.; SRINIVASAN, M. Mechanisms of NF-κB p65 and strategies for therapeutic manipulation. **J Inflamm Res**, v. 11, p. 407-419, 2018. ISSN 1178-7031. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30464573> >.
- 79 SI, F. L. et al. HSP superfamily of genes in the malaria vector *Anopheles sinensis*: diversity, phylogenetics and association with pyrethroid resistance. **Malar J**, v. 18, n. 1, p. 132, Apr 2019. ISSN 1475-2875. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30975215> >.
- 80 KIM, C. W. et al. Acetyl CoA Carboxylase Inhibition Reduces Hepatic Steatosis but Elevates Plasma Triglycerides in Mice and Humans: A Bedside to Bench Investigation. **Cell Metab**, v. 26, n. 2, p. 394-406.e6, Aug 2017. ISSN 1932-7420. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28768177> >.
- 81 GANNON, N. P.; SCHNUCK, J. K.; VAUGHAN, R. A. BCAA Metabolism and Insulin Sensitivity - Dysregulated by Metabolic Status? **Mol Nutr Food Res**, v. 62, n. 6, p. e1700756, 03 2018. ISSN 1613-4133. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29377510> >.
- 82 ETGEN, G. J.; OLDHAM, B. A. Profiling of Zucker diabetic fatty rats in their progression to the overt diabetic state. **Metabolism**, v. 49, n. 5, p. 684-8, May 2000. ISSN 0026-0495. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10831184> >.
- 83 WANG, S. M. et al. Identification of serum metabolites associated with obesity and traditional risk factors for metabolic disease in Chinese adults. **Nutr Metab Cardiovasc Dis**, Oct 2017. ISSN 1590-3729. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29122443> >.
- 84 ABBOUD, K. Y. et al. Oral Glutamine Supplementation Reduces Obesity, Pro-Inflammatory Markers, and Improves Insulin Sensitivity in DIO Wistar Rats and Reduces Waist Circumference in Overweight and Obese Humans. **Nutrients**, v. 11, n. 3, Mar 2019. ISSN 2072-6643. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30832230> >.

- 85 ROGERO, M. M. et al. Effect of alanyl-glutamine supplementation on plasma and tissue glutamine concentrations in rats submitted to exhaustive exercise. **Nutrition**, v. 22, n. 5, p. 564-71, May 2006. ISSN 0899-9007 (Print)0899-9007 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16472983> >.
- 86 BROER, S. Amino acid transport across mammalian intestinal and renal epithelia. **Physiol Rev**, v. 88, n. 1, p. 249-86, Jan 2008. ISSN 0031-9333 (Print)0031-9333 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18195088> >.
- 87 BATTEZZATI, A. et al. Splanchnic utilization of enteral alanine in humans. **Metabolism**, v. 48, n. 7, p. 915-21, Jul 1999. ISSN 0026-0495 (Print)0026-0495 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10421236> >.
- 88 CUNNINGHAM, G. A. et al. L-Alanine induces changes in metabolic and signal transduction gene expression in a clonal rat pancreatic beta-cell line and protects from pro-inflammatory cytokine-induced apoptosis. **Clin Sci (Lond)**, v. 109, n. 5, p. 447-55, Nov 2005. ISSN 0143-5221. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16045439> >.
- 89 BACHMANOV, A. A. et al. Genetics of Amino Acid Taste and Appetite. **Adv Nutr**, v. 7, n. 4, p. 806S-22S, Jul 2016. ISSN 2156-5376. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27422518> >.
- 90 YAZDI, F. T.; CLEE, S. M.; MEYRE, D. Obesity genetics in mouse and human: back and forth, and back again. **PeerJ**, v. 3, p. e856, 2015. ISSN 2167-8359. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25825681> >.
- 91 GREENFIELD, J. R. et al. Oral glutamine increases circulating glucagon-like peptide 1, glucagon, and insulin concentrations in lean, obese, and type 2 diabetic subjects. **Am J Clin Nutr**, v. 89, n. 1, p. 106-113, Jan 2009. ISSN 1938-3207. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19056578> >.
- 92 BLÜHER, M. Obesity: global epidemiology and pathogenesis. **Nat Rev Endocrinol**, v. 15, n. 5, p. 288-298, 05 2019. ISSN 1759-5037. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30814686> >.
- 93 FINCK, B. N. Targeting Metabolism, Insulin Resistance, and Diabetes to Treat Nonalcoholic Steatohepatitis. **Diabetes**, v. 67, n. 12, p. 2485-2493, 12 2018. ISSN 1939-327X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30459251> >.
- 94 BOLAND, B. B.; RHODES, C. J.; GRIMSBY, J. S. The dynamic plasticity of insulin production in β -cells. **Mol Metab**, v. 6, n. 9, p. 958-973, Sep 2017. ISSN

- 2212-8778. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28951821> >.
- 95 DUBUC, P. U. The development of obesity, hyperinsulinemia, and hyperglycemia in ob/ob mice. **Metabolism**, v. 25, n. 12, p. 1567-74, Dec 1976. ISSN 0026-0495 (Print)0026-0495 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/994838> >.
- 96 ARAUJO, T. R. et al. Benefits of L-alanine or L-arginine supplementation against adiposity and glucose intolerance in monosodium glutamate-induced obesity. **Eur J Nutr**, v. 56, n. 6, p. 2069-2080, Sep 2017. ISSN 1436-6215. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27317126> >.
- 97 MCCLENAGHAN, N. H. et al. Prolonged L-alanine exposure induces changes in metabolism, Ca(2+) handling and desensitization of insulin secretion in clonal pancreatic beta-cells. **Clin Sci (Lond)**, v. 116, n. 4, p. 341-51, Feb 2009. ISSN 1470-8736. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18702613> >.
- 98 KITADE, H. et al. Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Insulin Resistance: New Insights and Potential New Treatments. **Nutrients**, v. 9, n. 4, Apr 2017. ISSN 2072-6643. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28420094> >.
- 99 FURUKAWA, S. et al. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. **J Clin Invest**, v. 114, n. 12, p. 1752-61, Dec 2004. ISSN 0021-9738. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15599400> >.
- 100 LIU, Z. et al. Deletion of Nrf2 leads to hepatic insulin resistance via the activation of NF-κB in mice fed a high-fat diet. **Mol Med Rep**, v. 14, n. 2, p. 1323-31, Aug 2016. ISSN 1791-3004. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27315552> >.
- 101 YOH, K. et al. Hyperglycemia induces oxidative and nitrosative stress and increases renal functional impairment in Nrf2-deficient mice. **Genes Cells**, v. 13, n. 11, p. 1159-70, Nov 2008. ISSN 1365-2443. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19090810> >.
- 102 CRUZAT, V. F. et al. Alanyl-glutamine improves pancreatic beta-cell function following ex vivo inflammatory challenge. **J Endocrinol**, v. 224, n. 3, p. 261-71, Mar 2015. ISSN 1479-6805 (Electronic)0022-0795 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25550445> >.

- 103 WANG, R. H. et al. Hepatic Sirt1 deficiency in mice impairs mTorc2/Akt signaling and results in hyperglycemia, oxidative damage, and insulin resistance. **J Clin Invest**, v. 121, n. 11, p. 4477-90, Nov 2011. ISSN 1558-8238. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21965330> >.
- 104 CARON, A. Z. et al. The SIRT1 deacetylase protects mice against the symptoms of metabolic syndrome. **FASEB J**, v. 28, n. 3, p. 1306-16, Mar 2014. ISSN 1530-6860. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24297700> >.
- 105 GUARENTE, L. Calorie restriction and sirtuins revisited. **Genes Dev**, v. 27, n. 19, p. 2072-85, Oct 2013. ISSN 1549-5477. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24115767> >.
- 106 MENDES, K. L.; LELIS, D. F.; SANTOS, S. H. S. Nuclear sirtuins and inflammatory signaling pathways. **Cytokine Growth Factor Rev**, v. 38, p. 98-105, Dec 2017. ISSN 1879-0305. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29132743> >.
- 107 LEITE, J. S. M.; CRUZAT, V. F.; KRAUSE, M. B. J., PAULO IVO. **Physiological regulation of the heat shock response by glutamine: implications for chronic low-grade inflammatory diseases in age-related conditions:** Nutrire. 41: 17 p. 2016.
- 108 AKERFELT, M.; MORIMOTO, R. I.; SISTONEN, L. Heat shock factors: integrators of cell stress, development and lifespan. **Nat Rev Mol Cell Biol**, v. 11, n. 8, p. 545-55, Aug 2010. ISSN 1471-0080 (Electronic)1471-0072 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20628411> >. Disponível em: < <http://www.nature.com/nrm/journal/v11/n8/pdf/nrm2938.pdf> >.
- 109 CHUNG, J. et al. HSP72 protects against obesity-induced insulin resistance. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 105, n. 5, p. 1739-44, Feb 5 2008. ISSN 1091-6490 (Electronic)0027-8424 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=18223156 >.
- 110 WESTERHEIDE, S. D. et al. Stress-inducible regulation of heat shock factor 1 by the deacetylase SIRT1. **Science**, v. 323, n. 5917, p. 1063-6, Feb 2009. ISSN 1095-9203. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19229036> >.
- 111 YUAN, Y. et al. Regulation of SIRT1 in aging: Roles in mitochondrial function and biogenesis. **Mech Ageing Dev**, v. 155, p. 10-21, Mar 2016. ISSN 1872-6216. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26923269> >.

- 112 PRADA, P. O. et al. L-glutamine supplementation induces insulin resistance in adipose tissue and improves insulin signalling in liver and muscle of rats with diet-induced obesity. **Diabetologia**, v. 50, n. 9, p. 1949-1959, Sep 2007. ISSN 0012-186X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000248771800020 >.Disponível em: < http://download.springer.com/static/pdf/827/art%253A10.1007%252Fs00125-007-0723-z.pdf?auth66=1364147170_81054660a3530446fd9212c6d2994938&ext=.pdf >.
- 113 DE URBINA, J. J. O. et al. Effects Of Oral Glutamine on Inflammatory and Autophagy Responses in Cancer Patients Treated With Abdominal Radiotherapy: A Pilot Randomized Trial. **Int J Med Sci**, v. 14, n. 11, p. 1065-1071, 2017. ISSN 1449-1907. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29104459> >.
- 114 LI, B. et al. Liver injury attenuation by curcumin in a rat NASH model: an Nrf2 activation-mediated effect? **Ir J Med Sci**, v. 185, n. 1, p. 93-100, Feb 2016. ISSN 1863-4362. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25385666> >.
- 115 HARDWICK, R. N. et al. Diversity in antioxidant response enzymes in progressive stages of human nonalcoholic fatty liver disease. **Drug Metab Dispos**, v. 38, n. 12, p. 2293-301, Dec 2010. ISSN 1521-009X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20805291> >.
- 116 WULLAERT, A. et al. Hepatic tumor necrosis factor signaling and nuclear factor-kappaB: effects on liver homeostasis and beyond. **Endocr Rev**, v. 28, n. 4, p. 365-86, Jun 2007. ISSN 0163-769X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17431229> >.
- 117 AKASH, M. S. H.; REHMAN, K.; LIAQAT, A. Tumor Necrosis Factor-Alpha: Role in Development of Insulin Resistance and Pathogenesis of Type 2 Diabetes Mellitus. **J Cell Biochem**, v. 119, n. 1, p. 105-110, 01 2018. ISSN 1097-4644. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28569437> >.
- 118 SCHMIDT-ARRAS, D.; ROSE-JOHN, S. IL-6 pathway in the liver: From physiopathology to therapy. **J Hepatol**, v. 64, n. 6, p. 1403-15, 06 2016. ISSN 1600-0641. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26867490> >.
- 119 ALEKSANDROVA, K. et al. Inflammatory and metabolic biomarkers and risk of liver and biliary tract cancer. **Hepatology**, v. 60, n. 3, p. 858-71, Sep 2014. ISSN

1527-3350. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24443059> >.

120 WISCHMEYER, P. E. et al. Parenteral glutamine supplementation in critical illness: a systematic review. **Crit Care**, v. 18, n. 2, p. R76, 2014. ISSN 1466-609X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24745648> >.

121 ZIEGLER, T. R. et al. Efficacy and Safety of Glutamine-supplemented Parenteral Nutrition in Surgical ICU Patients: An American Multicenter Randomized Controlled Trial. **Ann Surg**, v. 263, n. 4, p. 646-55, Apr 2016. ISSN 1528-1140. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26501700> >.