

**CHRISTINY EMMANUELLE GABRIEL BONASSA**

**CONTEÚDO TECIDUAL DE MUCINAS ÁCIDAS TOTAIS,  
SULFOMUCINAS E SIALOMUCINAS NA MUCOSA CÓLICA  
DESPROVIDA DE TRÂNSITO INTESTINAL SUBMETIDA À  
INTERVENÇÃO COM SUCRALFATO.**

**BRAGANÇA PAULISTA  
2015**

**CHRISTINY EMMANUELLE GABRIEL BONASSA**

**CONTEÚDO TECIDUAL DE MUCINAS ÁCIDAS TOTAIS,  
SULFOMUCINAS E SIALOMUCINAS NA MUCOSA CÓLICA  
DESPROVIDA DE TRÂNSITO INTESTINAL SUBMETIDA À  
INTERVENÇÃO COM SUCRALFATO.**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade São Francisco para a obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde.

**Orientador:** Prof. Dr. Carlos Augusto Real Martinez

**BRAGANÇA PAULISTA  
2015**

WI 522 Bonassa, Christiny Emmanuelle Gabriel.

B69c Conteúdo tecidual das mucinas ácidas totais, sulfomucinas e sialomucinas na mucosa cólica desprovida de trânsito intestinal submetida a intervenção com sulcrafato / Christiny Emmanuelle Gabriel Bonassa. -- Bragança Paulista, 2015.  
63 p.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação  
*Stricto Sensu* em Ciências da Saúde da Universidade São Francisco.

Orientação de: Carlos Augusto Real Martinez.

Ficha catalográfica elaborada pelas bibliotecárias do Setor de  
Processamento Técnico da Universidade São Francisco.

## **Banca Examinadora**

### **Membros Titulares:**

1. Prof. Dr. Carlos Augusto Real Martinez
2. Prof. Dr. Murillo de Oliveira Antunes
3. Profa. Dra. Thaís Manzano Parisotto

### **Membros suplentes:**

Prof. Dra. Michele Darrieux Sampaio Bertoncini

Prof. Dr. Alfredo Luiz Jácomo

**Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências da Saúde da Universidade São Francisco.**

**Data: 26/02/2015**

# Ata de Defesa




Diretoria Acadêmica de Pós Graduação  
Programa de Pós-Graduação Stricto-Sensu  
Mestrado em Ciências da Saúde

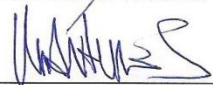
Credenciado pela CAPES  
Portaria Ministerial nº 2.000  
DOU 21/12/06 –Seção I – p.35-36

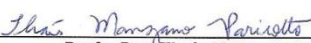
## Ata de Arguição Final da Dissertação da Aluna *Christiny Emmanuelle Gabriel Bonassa*

Aos vinte e seis dias do mês de fevereiro do ano de dois mil e quinze, às dezesseis horas, nas dependências da Universidade São Francisco, reuniu-se a Comissão da Banca Examinadora do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências da Saúde da Universidade São Francisco, para avaliação da dissertação intitulada "*Conteúdo tecidual das mucinas ácidas totais, sulfomucinas e sialomucinas na mucosa cólica desprovida de trânsito intestinal submetida a intervenção com sucralfato*", apresentada pela aluna, **Christiny Emmanuelle Gabriel Bonassa** graduada em Medicina, pela Fundação Educacional Serra dos Órgãos Faculdades Unificadas, que concluiu os créditos exigidos para a obtenção do Grau de "Mestre em Ciências da Saúde" segundo os registros constantes na Secretaria de Campus de Bragança Paulista. Os trabalhos foram instalados às dezesseis horas, pelo Professor Dr. Carlos Augusto Real Martinez, orientador e presidente da Banca Examinadora, constituída pelos seguintes Professores: Professor Murillo de Oliveira Antunes, Doutor em Ciências pelo Instituto do Coração, professora Thais Manzano Parisotto, Doutora em Odontopediatria pela Faculdade de Odontologia de Piracicaba. A Banca Examinadora tendo decidido aceitar a dissertação, passou à Arguição Pública a candidata Approvada estando apto a receber o título de "Mestre em Ciências da Saúde". E, para constar, eu Professor Doutor Carlos Augusto Real Martinez lavrei a presente Ata, que assino juntamente com os demais membros da Banca Examinadora.

Bragança Paulista, 26 de Fevereiro de 2015.

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Carlos Augusto Real Martinez  
Universidade São Francisco

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Murillo de Oliveira Antunes  
Universidade São Francisco

  
\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Thais Manzano Parisotto  
Universidade São Francisco

Obs.:

Campus Bragança Paulista Av. São Francisco de Assis, 218 - Jd. São José - CEP 12916-900 / Tel.: 11 2454.8000 / Fax: 4034.1825  
Campus Campinas - Unidade Cambuí R. Cel. Silva Teles, 700 prédio C - Cambuí - CEP 13024-001 / Tel.: 19 3779.3370  
Campus Campinas - Unidade Swift R. Waldemar César da Silveira, 105 - Swift - CEP 13045-510 / Tel.: 19 3779.3300 / Fax: 3779.3321  
Campus Itatiba R. Alexandre Rodrigues Barbosa, 45 - Centro - CEP 13251-900 / Tel.: 11 4534.8000 / Fax: 4534.8015  
Campus São Paulo R. Antonieta Leitão, 129 - Freguesia do Ó - CEP 02925-160 / Tel.: 11 3411.2950 / Fax: 3411.2978

**AOS MEUS PAIS, FATIMA E ANTONIO HENRIQUE**

Por terem me ensinado valores superiores a qualquer ciência.

**AO MEU JACINTHO**

Pelo amor incondicional, paciência, amizade e doçura.

**AO PROFESSOR DOUTOR CARLOS AUGUSTO REAL MARTINEZ**

Pela confiança e motivação, mostrando-me um caminho novo dentro da medicina  
e ajudando-me na realização profissional completa.

**AO MEU IRMÃO MATHEUS**

Que se faz presente em espírito protetor em cada dia da minha jornada como  
médica.

## **AGRADECIMENTOS**

A DEUS, Força maior e luz que guia minhas mãos na medicina.

Ao Professor Mestre JOSÉ AIRES PEREIRA pela realização de todas as etapas histológicas realizadas durante o estudo, bem como pelas análises morfométricas.

Aos acadêmicos do Curso de Medicina, MURILO ROCHA RODRIGUES e DANIELA TIEMI SATO pela inestimável colaboração em todas as etapas experimentais envolvidas neste estudo.

Aos funcionários do BIOTÉRIO CENTRAL DA UNIVERSIDADE SÃO FRANCISCO pelo primoroso cuidado com os animais de experimentação.

A FUNDAÇÃO DE AMPARO E PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO (FAPESP) pelo imprescindível apoio financeiro para a realização do presente estudo.

Aos professores e funcionários do PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE SÃO FRANCISCO, BRAGANÇA PAULISTA, pela oportunidade da concretização desta Dissertação.

A UNIVERSIDADE SÃO FRANCISCO, pelo acolhimento e oportunidade de realização profissional.

Aos professores doutores Murillo de Oliveira Antunes, Thaís Manzano Parisotto e Michele Darrieux Sampaio Bertoncini que colaboraram com sugestões para o aprimoramento desta dissertação.

**Epígrafe**

*“Porque eu sou do tamanho do que vejo, e não do tamanho da minha altura.”*

**(Fernando Pessoa)**



## RESUMO:

Estudos anteriores demonstraram que existe redução no conteúdo total de mucinas ácidas e de seus principais subtipos - sulfomucinas e sialomucinas - na mucosa cólica desprovida de trânsito intestinal. Também se demonstrou que a administração de sucralfato (SCF) aumenta o conteúdo de mucinas na mucosa do cólon excusso de trânsito fecal. **OBJETIVOS:** Mensurar o conteúdo tecidual de mucinas ácidas totais, sulfomucinas e sialomucinas na mucosa cólica sem trânsito fecal submetida à intervenção com SCF e verificar a influência da concentração utilizada e do tempo de intervenção. **MÉTODOS:** Trinta e seis ratos foram submetidos à derivação do trânsito por colostomia proximal e fístula mucosa no cólon distal. Os animais foram divididos em três grupos segundo receberem enemas diários com solução fisiológica 0,9%, SCF nas concentrações de 1,0 g/kg/dia ou 2,0 g/kg/dia, respectivamente. Cada grupo foi dividido em dois subgrupos, segundo a eutanásia ser realizada após 2 ou 4 semanas. A intensidade inflamatória foi avaliada por escala previamente validada. As mucinas ácidas na mucosa foram identificadas por histoquímica pela técnica do Azul de Alcian. A expressão tecidual de sulfomucinas e sialomucinas foi identificada pela técnica da diamina de ferro alto alcian-blue (HID-AB) e seu conteúdo tecidual mensurado por análise de imagem assistida por computador. Para análise dos resultados utilizou-se os testes de Mann-Whitney e ANOVA, adotando-se nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ). **RESULTADOS:** A intervenção com SCF diminuiu o escore inflamatório e relacionou-se com a concentração empregada e com o tempo de intervenção ( $p < 0,05$ ). A intervenção com SCF em ambas as concentrações utilizadas, aumentou o conteúdo tecidual de mucinas ácidas totais ( $p < 0,001$ ) relacionando-se com a concentração utilizada. O conteúdo de mucinas ácidas totais relacionou-se com a melhora do escore inflamatório. Houve aumento no conteúdo de sulfomucinas nos animais submetidos à intervenção com SCF após duas semanas de intervenção ( $p < 0,01$ ), não havendo relação com dose ou tempo de aplicação. Ocorreu aumento no conteúdo de sialomucinas relacionando-se com a concentração utilizada e com o tempo de intervenção ( $p < 0,01$ ). **CONCLUSÃO:** Clisteres com SCF aumentam o conteúdo tecidual de mucinas ácidas totais no cólon excusso de trânsito fecal, principalmente as custas das sialomucinas onde existe relação com a dose e o tempo de intervenção, sugerindo que a substância tenha efeito protetor na manutenção da barreira de muco que recobre o epitélio cólico.

**DESCRITORES:** Cólon. Colite. Sucralfato. Ácidos graxos de cadeia curta. Mucinas. Sialomucinas. Processamento de imagem assistida por computador. Ratos

## **ABSTRACT:**

Previous studies have shown that there is a reduction in the total content of acidic mucins and its major subtypes - sulphomucins and sialomucins - in colonic mucosa deprived of intestinal transit. It was also demonstrated that the administration of sucralfate (SCF) increases the rate of mucins in the mucosa of colon excluded of fecal stream. **OBJECTIVE:** To measure the tissue content of total acid mucins, sulphomucins and sialomucins the colonic mucosa without fecal stream submitted to intervention with SCF and the influence of the concentration used and the intervention time. **METHODS:** Thirty-six rats were submitted to a proximal right colostomy and a distal mucous fistula. They were divided into two groups according to sacrifice to be performed two or four weeks after intervention. Each group was divided into three subgroups according daily application of enemas containing saline, sucralfate (SCF) at 1.0 g/kg/day or 2.0 g/kg/day. Colitis was diagnosed by histological analysis and neutral and acid mucins by Periodic Acid Schiff and Alcian Blue techniques, respectively. The contents of mucins were quantified by computer-assisted image analysis. Student's t paired and ANOVA test were used to compare the contents of both types of mucins among groups, and to verify the variance with time, establishing level of signification of 5% for both ( $p < 0.05$ ). **RESULTS:** Intervention with SCF decreased the inflammatory score and was related to the concentration used and the duration of the intervention ( $p < 0.05$ ). Intervention with SCF at both concentrations, increased tissue content of total acid mucins ( $p < 0.001$ ) relating to the concentration used. The content of total acidic mucins was related to the improvement of the inflammatory score. There was an increase in the content of sulphomucins in animals undergoing intervention with SCF after two weeks of intervention ( $p < 0.01$ ), with no relationship to dose or duration of application. There was an increase in the content of sialomucins being related to the concentration used and the duration of the intervention ( $p < 0.01$ ). **CONCLUSIONS:** Enemas with SCF increased the tissue content of total acidic mucins in the exclusion of fecal colon, mainly at the expense of sialomucin which exists dose related and time of intervention, suggesting that the substance has protective effect in maintaining the barrier of mucus covering the colonic epithelium.

**Keywords:** Colon. Colitis. Sucralfate. Volatile fatty acids. Mucins. Sialomucins. Image processing computer-assisted. Mice.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS:

<b>AB</b>	<b>Alcian Blue</b>
<b>AGCC</b>	<b>Ácidos graxos de cadeia curta</b>
<b>CE</b>	<b>Colite de exclusão</b>
<b>CCR</b>	<b>Câncer colo retal</b>
<b>COBEA</b>	<b>Colégio Brasileiro de Experimentação Animal</b>
<b>COX</b>	<b>Cicloxygenase</b>
<b>DC</b>	<b>Dual core</b>
<b>Diamina de ferro alto/Alcian-blue</b>	<b>HIDAB</b>
<b>DII</b>	<b>Doença inflamatória intestinal</b>
<b>FDA</b>	<b>Food and Drug Administration</b>
<b>F</b>	<b>French</b>
<b>Gb</b>	<b>Gigabyte</b>
<b>H.E.</b>	<b>Hematoxilina-Eosina</b>
<b>H2O2</b>	<b>Peróxido de Hidrogênio</b>
<b>HTAB</b>	<b>Hexadeciltrimetilamônio</b>
<b>°C</b>	<b>Graus Celsius</b>
<b>mol/%</b>	<b>Moles por cento</b>
<b>MPO</b>	<b>Mieloperoxidase</b>

<b>PEG</b>	<b>Prostaglandinas</b>
<b>PAS</b>	<b>Periódico Ácido de Schiff</b>
<b>RA</b>	<b>Retite actínica</b>
<b>RAM</b>	<b>Memória de acesso aleatório</b>
<b>RCUI</b>	<b>Retocolite ulcerativa inespecífica</b>
<b>RLO</b>	<b>Radicais livres de oxigênio</b>
<b>SCF</b>	<b>Sucralfato</b>
<b>SF</b>	<b>Solução fisiológica 0,9%</b>

## LISTA DE TABELAS:

<b>Tabela 1</b> – Variação do conteúdo de mucinas ácidas, sulfomucinas e sialomucinas nos animais submetidos à intervenção com SF 0,9%, SCF1 e SCF2 após duas e quatro semanas. ....	33
--	----

## LISTA DE FIGURAS:

<b>Figura 1</b> – Fórmula estrutural do sucralfato (SCF) .....	18
<b>Figura 2</b> - Subdivisão dos grupos experimentais .....	25
<b>Figura 3</b> - A: Mucosa do cólon desprovido de trânsito após irrigação com SF 0,9% por 4 semanas (HE-100×). B: Mucosa do cólon desprovido de trânsito após irrigação com SCF na concentração de 2,0g/kg/dia por 4 semanas. Camada de SCF recobrimdo a superfície mucosa (seta preta) (HE-200×). .....	28
<b>Figura 4</b> – Escore inflamatório no cólon proximal e sem trânsito fecal dos animais dos grupos controle (SF 0,9%), SCF1 (SCF 1,0g/kg/dia) e SCF2 (2,0 g/Kg/dia) por duas e quatro semanas. * = significante < 0,05 (SCF2 × Controle – 4 semanas; •• = significante <0,01 Proximal < Controle, SCF1 e SCF2). Teste de Mann-Withney.....	29
<b>Figura 5</b> – Conteúdo tecidual de mucinas ácidas no cólon proximal e sem trânsito fecal dos animais dos grupos controle, SCF1 e SCF2 submetidos a intervenção diária com SCF por 2 e 4 semanas. ** = p<0,01 (SCF1 × Controle; SCF2 × Controle); †† = p<0,01 (SCF1 × SCF2). Teste de Mann-Withney. ....	30
<b>Figura 6</b> – Conteúdo tecidual de sulfomucinas nos animais dos grupos cólon proximal, controle, SCF1 e SCF2 submetidos a intervenção diária com SCF por 2 e 4 semanas. ** = p<0,01 (SCF1 × Controle; SCF2 × Controle). Teste de Mann-Withney. ....	31
<b>Figura 7</b> – Conteúdo tecidual de sialomucinas nos animais dos grupos cólon proximal, controle, SCF1 e SCF2 submetidos a intervenção diária com SCF por 2 e 4 semanas. ** = p<0,01 (SCF1 × Controle; SCF2 × Controle); †† = p<0,01 (SCF2 × SCF1) após duas semanas; † = p<0,05 (SCF2 × SCF1) após 4 semanas. Teste de Mann-Withney. ....	32

## SUMÁRIO:

1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	6
2.1. As mucinas.....	6
2.2. Colite de exclusão.....	12
2.3. Análise de Imagem Assistida por Computador .....	15
2.4. Sucralfato .....	17
3. OBJETIVOS .....	23
4. METODO.....	24
4.1. Animais de experimentação.....	24
4.2. Técnica Cirúrgica .....	24
4.3. Grupos experimentais .....	25
4.4. Coleta de Amostras .....	26
4.5. Análise histológica.....	26
4.6. Quantificação do conteúdo de mucinas ácidas .....	27
4.7. Análise Estatística .....	27
5. RESULTADOS .....	28
6. DISCUSSÃO .....	34
7. CONCLUSÕES.....	44
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	45
9. ANEXO I: Bula do sucralfato .....	59
10. ANEXO II: Carta de aprovação do comitê de ética .....	63

## 1. INTRODUÇÃO

A mucosa do cólon é considerada a mais perfeita barreira do ser humano, pois protege o meio interno contra invasão de bactérias, antígenos e toxinas provenientes da luz intestinal (Keli et al, 1997). O muco recobre o epitélio constitui-se na primeira linha de defesa e a maior parte de seu efeito protetor é conferido pela presença de mucinas, glicoproteínas predominantes em sua composição (Keli et al, 1997; Deplancke e Gaskins, 2001). A principal função do muco é servir de proteção às células epiteliais durante a progressão do conteúdo pelo lúmen intestinal (Gaudier et al, 2009). A viscosidade característica conferida pela mucina funciona com um lubrificante, facilitando a progressão as fezes, principalmente pelos segmentos mais caudais do intestino grosso. Essa propriedade dificulta o traumatismo mecânico a superfície epitelial provocada pela progressão do bolo fecal (Finnie et al, 1995). O muco, secretado pelas células caliciformes localizadas nas criptas intestinais ao longo da superfície mucosa, forma uma camada gelatinosa que, aderida ao epitélio mucoso, também confere uma proteção química contra a agressão ocasionada por antígenos, toxinas e enzimas digestivas existentes no interior da luz intestinal. A camada de muco, por apresentar propriedades bactericidas, reduz a população bacteriana dificultando a translocação para o meio interno (Gaudier et al, 2009; Finnie et al, 1995).

As células epiteliais produzem dois tipos de mucinas: as neutras e ácidas (Keli et al, 1997; Deplancke e Gaskins, 2001). As mucinas ácidas, por sua vez, são constituídas por dois subtipos, segundo a predominância de radicais sulfato (sulfomucinas) ou de ácido siálico (sialomucinas) em sua molécula (Keli et al, 1997; Deplancke e Gaskins, 2001). No homem as mucinas neutras expressam-se em maior quantidade nas porções craniais do tubo digestivo, enquanto as ácidas predominam nas regiões caudais (Nonose et al, 2009). Na mucosa cólica normal, a proporção entre mucinas neutras e ácidas se mantém constante ao longo do tubo digestivo, mas podem sofrer modificações nas diferentes enfermidades que ocasionam inflamação na superfície



mucosa epitelial da parede cólica (Keli et al, 1997; Deplancke e Gaskins, 2001). Essas enfermidades alteram a produção, modificam a composição, interferem na secreção e no padrão de distribuição das mucinas no epitélio intestinal. Demonstrou-se que doenças inflamatórias intestinais representadas, principalmente, pelas colites bacterianas, retocolite ulcerativa inespecífica (RCUI), doença de Crohn, colite de exclusão (CE) e doenças neoplásicas como os pólipos adenomatosos e o câncer colorretal (CCR) são capazes de modificarem o padrão de expressão o tipo e o conteúdo das mucinas presentes no epitélio do tubo digestivo (Keli et al, 1997; Deplancke e Gaskins, 2001; Finnie et al, 1995, Martinez et al, 2010)

Já foi demonstrado que a capacidade do epitélio do intestino grosso em produzir mucinas depende do adequado suprimento de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) formado a partir da fermentação de fibras ingeridas na dieta (Finnie et al, 1995; Gaudier et al, 2009). Demonstrou-se que o fornecimento de AGCC as células mucosas, em particular o ácido butírico, é fundamental para a expressão de genes relacionados à transcrição da fração proteica das mucinas (Gaudier et al, 2009). A produção das mucinas diminui a medida que a expressão dos genes responsáveis pela sua transcrição também se reduz, conseqüente ao menor suprimento de matriz energética (AGCC) às células epiteliais da mucosa cólica (Gaudier et al, 2009; Martinez et al, 2010).

Estudos realizados pelo nosso grupo, há quase uma década mostrou que derivação intestinal, impedindo o suprimento de ACGG para o cólon excluído de trânsito, reduz a capacidade de produção de mucinas pelas células caliciformes que se agrava com o tempo de exclusão (Nonose et al, 2009; Martinez et al, 2010). Demonstrou-se que após a derivação do trânsito cólico, ocorre redução no conteúdo total de mucinas neutras e ácidas (Nonose et al, 2009; Martinez et al, 2010). Essa redução é mais evidente ao medir-se o conteúdo de mucinas ácidas, principalmente as custas de sialomucinas (Martinez et al, 2010). A redução no conteúdo de mucinas ácidas além de ser mais evidente encontra-se relacionado ao agravamento do processo inflamatório que compromete a mucosa cólica desprovida do suprimento habitual de AGCC.

Pesquisas utilizando modelos experimentais de colite de exclusão (CE) mostraram que existe aumento na produção de radicais livres de oxigênio (RLO) pelas células desprovidas de trânsito fecal. Essa produção aumentada de RLO se agrava com o decorrer do tempo de exclusão, provoca estresse oxidativo e morte das células mais especializadas que compõem o epitélio cólico. É possível que o dano celular resultante desse dano oxidativo possa estar relacionado a redução no conteúdo dos diferentes tipos de mucinas vistas nos modelos experimentais de CE (Kelli et al, 1997; Nonose et al, 2009; Martinez et al, 2010). Os resultados sugerem que o dano epitelial provocado pelos RLO, com o objetivo de substituir as células superficiais mortas, estimule a proliferação de células situadas na zona germinativa das glândulas mucosas. Acredita-se que essas células formadas para substituir as células superficiais especializadas danificadas pelo estresse oxidativo sejam imaturas e expressem um subtipo específico de mucina ácida, explicando as diferenças encontradas no tipo e conteúdo de mucina ácida encontrada (Nonose et al, 2009; Martinez et al, 2010).

Corroboram essas suspeitas evidências mostrando que aplicação de enemas contendo substâncias, naturais ou sintéticas, com efeito antioxidante, ou soluções ricas em AGCC, melhora as alterações inflamatórias teciduais encontradas nos modelos de CE (Kelli et al, 1997; Deplencke e Gaskins, 2001; Gaudier et al, 2009; Finnie et al, 1995, Nonose et al, 2009). Recentemente demonstramos que a aplicação de clisteres contendo sucralfato (SCF), substância que apresenta propriedades antioxidantes foi capaz de minimizar as modificações no conteúdo e no padrão de expressão de mucinas na mucosa cólica desprovida de trânsito fecal (Chaim, 2014; Chaim et al, 2014) De modo inverso, a exposição da mucosa cólica a substâncias com grande poder oxidante, tais como peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), piora o dano epitelial e, provavelmente, deve reduzir o conteúdo de mucinas no epitélio submetido a intervenção (Marques et al, 2010). Diante dessas evidências, torna-se interessante avaliar o efeito de moléculas que possuam efeito antioxidante e estimulem a produção de mucinas no epitélio cólico.

O SCF é o sal formado pelo dissacarídeo octosufalto de sacarose associado ao hidróxido de polialumínio (Deplencke e Gaskins, 2001). A substância é considerada um complexo citoprotetor inicialmente utilizado para prevenir ou tratar doenças do trato

digestivo superior (Deplancke e Gaskins, 2001). Os efeitos terapêuticos do SCF nas lesões cutaneomucosas estão relacionados à propriedade que o complexo formado tem em aderir-se, firmemente, à superfície cruenta de lesões epiteliais. Todavia, recentemente, demonstrou-se que o SCF possui outras propriedades funcionais como estimular a produção de muco, aumentar a produção de prostaglandinas (PGE2) e do fator de crescimento epitelial (Martinez et al, 2010). Observou-se a admirável capacidade que a administração de SCF possui em estimular a formação das mucinas ácidas no trato digestivo superior (Cunha et al, 2011; Chaim et al, 2014;). Nota-se ainda, que a aplicação tópica do SCF possui atividade antioxidante sendo capaz de reduzir a formação de RLO produzidos por neutrófilos presentes no tecido inflamado (Gaudier et al, 2009).

Kelli et al. em 1997 e Finnie et al. em 1995 foram os primeiros autores a comprovarem a eficácia da aplicação de clisteres contendo SCF em doentes que apresentavam sangramento retal ocasionado pela retite actínica (RA). A partir deste estudo pioneiro, uma série de autores não só confirmaram os efeitos do SCF na melhora clínica, endoscópica e histológica nos portadores de RA, com passaram a utilizá-lo no tratamento de outras doenças inflamatórias intestinais (DII) que evoluíam com a formação de úlceras epiteliais (Finnie et al, 1995, Nonose et al, 2009; Martinez et al, 2010, Habib et al,1986; Gaudier et al, 2004; Martinez et al, 2010). Apesar da CE cursar com redução do conteúdo de mucinas nas glândulas do epitélio cólico (Nonose et al, 2009; Martinez e al, 2010) e formação de ulcerações epiteliais relacionadas ao estresse oxidativo tecidual (Martinez et al, 2010), até a presente data, apenas um estudo experimental avaliou os efeitos da aplicação de enemas com SCF na mucosa exclusiva de trânsito intestinal. Esse estudo mostrou que a substância foi capaz de reduzir a depleção das mucinas ácidas quando comparado a utilização de solução salina sugerindo que a droga tenha ação eficaz para manutenção da primeira linha de defesa epitelial representada pela camada de muco. Todavia, neste estudo, apesar de ter demonstrar a preservação da expressão e conteúdo das mucinas ácidas, geralmente o subtipo que apresenta maior redução após a exclusão fecal, os autores não avaliaram se essa preservação estava relacionada a um subtipo específico de

mucina ácida. Do melhor do nosso conhecimento, a expressão e o conteúdo de sulfomucinas e sialomucinas ainda não foi avaliado em doentes ou modelos experimentais de CE submetidos a intervenção com SCF, o que faz deste estudo uma proposta inédita.

Assim, torna-se interessante verificar num modelo experimental de CE, os efeitos da aplicação diária de clisteres com SCF no conteúdo total mucinas ácidas e de seus principais subtipos - sulfomucinas e sialomucinas - na mucosa cólica exclusiva de trânsito intestinal.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. As mucinas**

A mucosa cólica é revestida por epitélio do tipo colunar simples composto por diferentes tipos de células. Dentre elas destacam-se os enterócitos (colonócitos), células fonte, células entero-endócrinas, células de Paneth e, principalmente, células caliciformes (Junqueira e Carneiro, 2008).

As células caliciformes são encontradas em maior número e ocupam, praticamente, toda a extensão das criptas intestinais (glândulas de Lieberkhün). São células cilíndricas, produtoras de muco, que possuem dois domínios funcionais: apical e basal. O domínio apical, com formato de cálice, contém em seu citosol grandes vesículas repletas de muco que migram em direção a membrana celular, liberando seu conteúdo para a superfície do epitélio cólico (Junqueira e Carneiro, 2008).

O domínio basal, mais estreito, se prende à lâmina basal por proteínas de adesão celular. No domínio basal encontra-se o retículo endoplasmático rugoso, responsável pela síntese da porção proteica que compõe o muco cólico, e o aparelho de Golgi, que adiciona grupos oligossacarídeos ao muco produzido, diferenciando os subtipos de mucinas (Junqueira e Carneiro, 2008).

A proporção entre células caliciformes e as demais células que compõem o epitélio mucoso não é constante quando se comparam as diferentes regiões do cólon (Junqueira e Carneiro, 2008). As células caliciformes aumentam progressivamente em número à medida que se dirige do ceco para os segmentos caudais do intestino grosso. Essa diferença encontra-se relacionada às distintas funções fisiológicas exercidas pelo epitélio mucoso quando se compara o cólon proximal com o distal (Junqueira e Carneiro, 2008). O epitélio do cólon proximal desempenha, predominantemente, função relacionada à absorção de água e eletrólitos sendo, portanto, constituído de células especializadas para esse fim. No cólon esquerdo, pela maior consistência das fezes, existe a necessidade de um epitélio rico em células capazes de produzir maior quantidade de muco com o intuito de facilitar a progressão do conteúdo fecal ao longo dessa porção intestinal (Junqueira e Carneiro, 2008). Essas diferenças na população de

células caliciformes ao longo do cólon se refletem no padrão e intensidade de expressão das mucinas quando se comparam segmentos cólicos distintos

O muco secretado pelas células caliciformes é formado por compostos glicoprotéicos, principalmente, representados pelas mucinas. As moléculas de mucinas possuem alto peso molecular e apresentam em sua composição 20% de proteína e 80% de carboidrato. Após a liberação das células caliciformes para a superfície epitelial, as mucinas hidratam-se formando uma cobertura gelatinosa que adere ao epitélio cólico protegendo-o contra a abrasão mecânica e invasão bacteriana (Gaudier et al, 2006).

Estudos avaliando a fração proteica da molécula da mucina encontraram diferenças na disposição dos aminoácidos ao longo da proteína (Gaudier et al, 2006; Gaudier et al, 2009). Mostraram que existem pelo menos 15 diferentes genes capazes de transcrevê-las (Gaudier et al, 2006; Gaudier et al, 2009). Essas diferenças foram posteriormente confirmadas por estudos genéticos que encontraram diferenças na ordem com que os nucleotídeos se dispõem ao longo do gene codificador da proteína, permitindo identificar nove principais subtipos de mucinas com relação à fração protéica denominadas *MUC1*, *MUC2*, *MUC3*, *MUC4*, *MUC5A*, *MUC5B*, *MUC5AC*, *MUC7* e *MUC8*. Na mucosa intestinal do cólon as mucinas são transcritas, principalmente, pelo gene *MUC-2* e, numa menor intensidade, pelos genes *MUC-1*, *MUC-3* e *MUC-4*. Todavia, independente do componente glicídico encontrado, o gene *MUC-2* é o principal codificador das mucinas encontradas no epitélio cólico (Ogata et al, 1992; Williams et al, 1999).

A expressão dos genes produtores de mucinas encontra-se alterada em muitas doenças que acometem o intestino grosso. Alterações na expressão do gene *MUC-2*, assim como anormalidades no mecanismo de sua transcrição vem sendo descritas nas DII (Tytgat et al, 1995; Tytgat et al, 1996). A expressão dos genes *MUC-5AC* e *MUC-6* encontram-se alterada nos pólipos adenomatosos. O gene *MUC-2* apresenta maior expressão no CCR produtor de muco e pouca nos tumores não produtores (Gratchev et al, 1998; Porchet et al, 1999).

Estudos avaliando a influência dos AGCC, em particular do butirato na expressão desses genes relacionados à síntese de mucinas demonstraram que o gene *MUC-2* aumenta mais de 20 vezes a sua expressão quando o butirato é acrescido em meios com cultura de células (Gaudier et al, 2009). Esses achados confirmam a importância dos AGCC na manutenção da síntese proteica pelas células do epitélio cólico, em particular das mucinas. Quanto à fração glicídica de sua molécula, as mucinas podem ser divididas em dois grandes grupos, representadas pelas mucinas neutras, ricas em glicogênio, e ácidas, ricas em ácido siálico ou radicais sulfatados (Spicer et al, 1991; Leppi e Spicer, 1966). Apesar das diferenças químicas em seus constituintes glicídicos, os dois tipos de mucinas, aparentemente, possuem as mesmas funções biológicas (Filipe, 1979).

A fração glicídica das mucinas neutras é composta, principalmente, por glicogênio e recebem essa denominação, por possuírem pequena quantidade de ácido siálico na composição (menos de 1mol/%) (Nonose et al, 2009). É o subtipo mais encontrado no interior das células caliciformes do trato gastrintestinal e representam, aproximadamente, 80% do conteúdo total de mucinas encontradas no tubo digestivo. A porção glicídica das mucinas neutras contém alta concentração molecular de frutose, galactose e n-acetilglucosamina, e pequena quantidade de ácido siálico e n-acetilgalactosamina (Nonose, 2009). A fração protéica das mucinas neutras é formada principalmente pelos aminoácidos serina, aspartato e alanina.

De maneira diferente, as mucinas ácidas possuem na sua fração glicídica maior quantidade de ácido siálico (mais que 10mol/%) e a sua fração glicídica é composta principalmente por glucosamina, galactosamina e frutose (Nonose et al, 2009). As mucinas ácidas dividem-se em dois subgrupos representados pelas sulfomucinas e sialomucinas segundo a predominância de radicais sulfatados ou de ácido siálico, respectivamente, na sua porção glicídica (Martinez et al, 2010). Quando se analisa a fração proteica das mucinas ácidas, a prolina, treonina e glicina são os aminoácidos mais presentes (Gold et al, 1981).

No epitélio normal as mucinas neutras, habitualmente, expressam-se com maior intensidade nos segmentos craniais do trato digestivo (estômago e duodeno), enquanto

as ácidas apresentam maior intensidade de expressão a partir da flexura duodeno-jejunal (Leppi e Spicer, 1966; Goldman e Ming, 1968; Filipe, 1969). Acredita-se que os diferentes padrões existentes possam estar relacionados às diferentes origens embriológicas dos segmentos que formam o tubo digestivo (Gervaz, et al, 2001; Martinez, et al, 2010).

O esôfago, estômago e duodeno originam-se, embriologicamente, a partir do intestino anterior. O jejuno, íleo, ceco, cólon ascendente e os dois terços proximais do cólon transversal originam-se do intestino médio. O terço final do cólon transversal, descendente, sigmoide e os dois terços proximais do reto são formados a partir do intestino posterior (Gervaz et al, 2001). As diferentes origens embriológicas do cólon podem ser confirmadas pelas diferenças anatômicas com relação ao suprimento arterial, drenagem venosa e linfática, inervação, bem como histológicas, quando se comparam segmentos proximais e distais em relação à flexura esplênica (Distler e Holt, 1997; Gervaz et al, 2001). Nos segmentos proximais as criptas cólicas são maiores, mais profundas, provavelmente adaptadas à maior função absorptiva dessa região, enquanto no cólon distal as criptas são menos profundas e com maior quantidade de células caliciformes, relacionadas aos processos de lubrificação para facilitar a progressão das fezes formadas. (Gervaz et al, 2001).

Recentemente, com o advento das técnicas de “microrray”, que permitem o estudo simultâneo da expressão de vários genes obtidos de uma mesma amostra de tecido, verificou-se que o perfil de expressão de mais de 1000 genes que controlam o ciclo celular das células da mucosa do cólon são diferentes nos cólons proximal e distal (Glebov et al, 2003). A expressão de alguns deles pode ser até três vezes mais intensa dependendo do segmento considerado. Segundo os autores estes achados talvez expliquem as mudanças nos padrões de expressão das mucinas quando se comparam os diferentes segmentos do cólon.

Há quatro décadas, pesquisas vêm avaliando a expressão de mucinas ácidas e neutras na mucosa do intestino grosso. Esses estudos já demonstraram que no epitélio normal existe predomínio das mucinas ácidas, principalmente sulfomucinas (Filipe, 1969). Ao longo de toda superfície epitelial do cólon ambos os subtipos de mucinas



ácidas estão presentes, mas dependendo da região considerada existe predomínio de um ou outro subtipo.

Muitas vezes, em uma mesma célula caliciforme, podem ser encontrados os dois subtipos de mucinas ácidas. As sialomucinas localizam-se no domínio basal da célula entre o núcleo e o complexo de Golgi, enquanto as sulfomucinas ocupam, principalmente, o domínio apical próximo à membrana celular voltada para a luz intestinal. Moderadas quantidades de mucinas neutras são encontradas na superfície epitelial localizadas, principalmente, nas porções superiores das criptas. Este padrão de distribuição das mucinas predomina no cólon esquerdo e reto. (Greco et al, 1967; Goldman e Ming, 1968; Filipe, 1969). Todavia, outros estudos, encontraram padrão de distribuição distinto, mostrando que as células produtoras de sulfomucinas são mais numerosas na metade superior das criptas, enquanto as produtoras de sialomucinas predominam na porção mais profunda das criptas cólicas (Leppi e Spicer, 1966).

O padrão de expressão das mucinas no epitélio cólico de ratos é semelhante ao encontrado em seres humanos (Sakata e von Engelhardt, 1981). Estudo experimental demonstrou que o conteúdo de mucinas neutras decresce enquanto o conteúdo de mucinas ácidas aumenta quando se progride do ceco em direção ao cólon distal. Em relação às mucinas ácidas constatou que as sulfomucinas estavam presentes apenas no cólon distal, enquanto as sialomucinas, apesar de serem encontradas em todo o cólon, aumentavam em quantidade à medida que se progride do ceco para o cólon distal (Sakata e von Engelhardt, 1981). Outros autores verificaram que no cólon esquerdo, de forma semelhante ao que ocorre no homem, as sulfomucinas ocupam os dois terços superiores das criptas intestinais, enquanto as sialomucinas os dois terços inferiores (Keli et al, 1997).

A intensidade de expressão, o tipo e o padrão de distribuição de mucinas ao longo das criptas modificam-se em diversas doenças que acometem o cólon (Filipe, 1969; Uchida et al, 2001; Castro et al, 2006.). Estudos mostraram diferentes padrões de expressão na mucosa cólica de doentes portadores de RCUI, adenomas, na mucosa cólica adjacente a tumores do cólon (mucosa de transição) e, principalmente, no CCR

(Filipe, 1969; Filipe e Dawson, 1970; Filipe, 1971; Ono e Katsuyama, 1985; Trauner et al, 1994; Tsuiji et al, 1998; Tamai et al, 1998; Uchida et al, 2001).

Estes resultados motivaram a aplicação de técnicas histoquímicas com o objetivo de avaliar mudanças em seu padrão de expressão como uma variável capaz de detectar precocemente a transformação maligna. A expressão de mucinas na mucosa cólica inflamada por diferentes condições clínicas, também pode modificar-se (Filipe, 1969; Filipe, 1972; Filipe, 1975). Nas colites inespecíficas a produção total de mucinas ácidas encontra-se reduzida e, nas áreas onde o processo inflamatório é mais intenso, as mucinas podem não ser identificadas. A expressão de mucinas ao longo das criptas é irregular apresentando tanto mucinas neutras quanto ácidas com predomínio das sulfomucinas (Filipe, 1969). Na RCUI o principal subtipo de mucina encontrada no epitélio inflamado é a sialomucina, entretanto é possível encontrar-se pequena expressão tecidual de sulfomucinas, principalmente na porção mais profunda das criptas intestinais. Na RCUI a expressão de mucinas neutras diminui acentuadamente, e em alguns casos está ausente (Filipe, 1969).

Modificação na secreção de mucinas parece ser um dos elementos mais importantes no espectro histológico da CE servindo ainda como base para discussão com relação aos aspectos etiopatogênicos envolvidos. (Keli et al, 1997). Do melhor do nosso conhecimento, poucos estudos avaliaram a expressão de mucinas ácidas comparando segmentos providos e desprovidos de trânsito intestinal com CE (Keli et al, 1997; Nonose et al, 2009; Martinez et al, 2010). Esses autores verificaram que após um período de seis semanas de exclusão fecal já existem modificações no conteúdo e padrão de expressão das mucinas no epitélio sem trânsito intestinal. De um modo geral, as sulfomucinas praticamente ocupam toda a extensão das criptas enquanto as sialomucinas praticamente desaparecem sendo fracamente detectadas nas porções mais profundas das criptas cólicas (Keli et al, 1997; Nonose, 2009; Martinez et al, 2010). Um desses estudos mostrou que após 18 semanas de exclusão fecal a expressão das sulfomucinas mantém-se inalterada enquanto as sialomucinas desaparecem totalmente (Martinez et al, 2010). Os autores chamam a atenção para o

fato de que os resultados histológicos encontrados mostraram que o padrão de expressão das mucinas ácidas se fazia de modo inverso ao que ocorria na RCUI.

## **2.2. Colite de exclusão**

Glotzer et al (1981) descreveram, pela primeira vez, o desenvolvimento de processo inflamatório na mucosa de segmentos cólicos desprovidos de trânsito fecal. Os autores denominaram esta nova forma de doença inflamatória intestinal de CE. Quando da descrição original, já chamavam a atenção para o fato que a inflamação da mucosa cólica se desenvolvia, mesmo nos doentes submetidos à derivação do trânsito intestinal, por afecções não relacionadas às doenças inflamatórias intestinais. Desde então, a CE vem sendo descrita cada vez com maior frequência.

A CE acomete segmentos distais do cólon ou reto de indivíduos submetidos a intervenções cirúrgicas que desviam o trânsito intestinal, realizadas por diversas situações clínicas, representadas, principalmente, pelas neoplasias obstrutivas do cólon, doença diverticular complicada, DII, trauma, e enfermos submetidos à ostomias derivativas como medida de proteção contra a gravidade de fístulas de anastomoses realizadas a jusante (Kelli et al, 1997). Com o aumento da incidência do CCR em todo mundo e o incremento da violência urbana nos grandes centros, a frequência da CE também aumenta por consequência. A CE também pode ser encontrada em segmentos cólicos excluídos de trânsito, utilizados para reconstituição das vias urinárias, derivações ureterais ou para a confecção de neovaginas. A incidência da CE pode ser ainda maior que o referido pela literatura. Segundo Habr-Gama (1997), no Brasil, observou-se que o trânsito intestinal somente é restabelecido em 57% dos enfermos com colostomia temporária condenando o restante dos enfermos a conviverem pelo resto de suas vidas com a doença. Nos doentes cujo trânsito intestinal é restabelecido, o tempo médio para a reconstituição do trânsito é de oito meses, tempo este mais do que suficiente para o desenvolvimento da CE (Habr-Gama et al, 1997). A CE é diagnosticada em 91% dos pacientes submetidos a exame endoscópico sistemático do intestino excluído de trânsito após três meses da confecção do estoma, em 52% deles, apresenta-se com intensidade leve, 44% moderada e em 4% grave (Habr-Gama et al, 1997) .

As bases etiopatogênicas para o desenvolvimento CE ainda não se encontram totalmente esclarecidas. Já se propôs que a enfermidade possa ter origem isquêmica, ou se deva a mudanças na quantidade e características da flora bacteriana encontrada do cólon excluso (Kelli et al, 1997), com redução da população bacteriana e predomínio de bactérias redutoras de nitrato (Gaudier et al, 2009; Finnie et al, 1995). Entretanto, a maioria dos autores, propõe que a doença decorra da deficiência de AGCC na luz intestinal, ocasionada pela derivação do trânsito fecal (Kelli et al, 1997; Gaudier et al, 2009; Finnie et al, 1995; Nonose et al, 2009; Martinez et al, 2010).

Os AGCC, representados pelo butirato, acetato e propionato, principais combustíveis energéticos para as células do epitélio cólico, são formados a partir da fermentação de fibras vegetais dietéticas e carboidratos pelas bactérias anaeróbicas existentes na luz intestinal (*Clostridium sp.*, *Eubacterium sp* e *Fusobacterium sp.*). Respondem por 90% de todo o substrato energético utilizado pelas células da mucosa cólica. Depois de formados, os AGCC são rapidamente absorvidos, sendo considerado o principal substrato para que as células da mucosa cólica, através de reações oxidativas, formem a energia necessária para seu adequado funcionamento (Finnie et al, 1995).

Dos AGCC produzidos o butirato é a principal fonte de energia. Como combustível representa de 70% a 80% dos AGCC metabolizados pelas células epiteliais do cólon (Roediger, 1982). Estudos utilizando cultura de células, onde são acrescidos butirato e acetato ou butirato e propionato, mostram que o butirato inibe a oxidação do acetato e do propionato, sugerindo que as células cólicas utilizam preferencialmente o butirato com fonte principal de energia, mesmo quando dispõem dos três subtipos. Há três décadas demonstrou-se que células isoladas do cólon são capazes de aumentar seu consumo de oxigênio quando o butirato é acrescido ao meio, sugerindo que o butirato é o substrato mais intensamente metabolizado por essas células. Quando o butirato é o único substrato acrescido a culturas de células, a taxa celular de consumo aumenta em mais de 80%, confirmando sua importância como fonte de energia. De todas as substâncias utilizadas pelos colonócitos para a obtenção de

energia, verifica-se que o butirato é a mais utilizada, seguido pelo propionato, acetato, cetonas, aminoácidos (glutamina) e glicose (Nonose et al, 2009)

Estudo recente sugere que as alterações no mecanismo energético celular decorrente da falta dos AGCC levam a formação de altos níveis de espécies reativas de oxigênio (Martinez et al, 2010). Os radicais livres de oxigênio, formados em excesso, são capazes de danificar a função de barreira de muco localizada na superfície do epitélio cólico, facilitando a translocação bacteriana para a intimidade da camada submucosa estéril e desencadeando a resposta inflamatória de defesa encontrada na CE (Martinez et al, 2010).

O quadro clínico da CE é variável e encontra-se diretamente relacionado à extensão da mucosa cólica excluída de trânsito e ao tempo decorrido desde a confecção do estoma derivativo. Nos casos iniciais, onde o comprometimento da mucosa cólica é menor, pode evoluir de forma assintomática (Kelli et al, 1997). Os doentes com maior tempo de evolução e comprometimento intestinal mais extenso são sintomáticos apresentando dor abdominal, tenesmo e eliminação de sangue e muco pelo segmento excluído. Cabe destacar que estes mesmos achados são encontrados no cólon interposto nas intervenções para reconstituição do trato urológico ou genital. O aparecimento de estenoses colorretais, úlceras perianais e fístulas pode ocorrer mais raramente (Nonose et al, 2009; Martinez et al, 2010).

O diagnóstico da CE geralmente é feito pelo exame endoscópico e estudo histopatológico da mucosa excluída de trânsito, no entanto, o enema opaco com a técnica do duplo contraste, possibilita o diagnóstico de hiperplasia linfóide folicular. O segmento sem trânsito apresenta mucosa cólica hiperemiada, congesta, edemaciada, friável, com nítido apagamento dos vasos sanguíneos da submucosa e sangramento espontâneo ao contato do endoscópio. A superfície cólica é recoberta por uma camada mais espessa de muco, parcialmente aderida a ela. Nos casos graves, ocorre formação de úlceras aftóides praticamente indistinguíveis à avaliação endoscópica, daquelas encontradas na RCU, tornando difícil o diagnóstico diferencial com a CE.

Microscopicamente, os enfermos com CE mostram uma variedade de modificações histológicas, porém sem nenhuma alteração característica. Encontra-se

infiltrado inflamatório misto na mucosa do cólon excluso, predominantemente composto por neutrófilos, linfócitos, macrófagos e eosinófilos, acompanhado ou não de distorções na arquitetura das células epiteliais e, paradoxalmente, depleção das células caliciformes (Kelli et al, 1997; Finnie et al, 1995, Nonose et al, 2009; Martinez et al, 2010). É possível encontrar abscessos glandulares na base das criptas, e áreas de hiperplasia linfóide nodular, considerada a alteração histológica mais característica. Nas áreas com hiperplasia linfóide nodular existe predomínio de linfócitos do tipo B em relação aos linfócitos T, sugerindo que ocorra resposta imunológica mais do tipo humoral, pela estimulação antigênica persistente, do que celular, pela infiltração de bactérias a partir de um segmento intestinal com menor conteúdo bacteriano. Excepcionalmente as áreas com hiperplasia nodular linfóide, nos doentes com exclusão de trânsito por tempo prolongado, podem desenvolver micro carcinóides cólicos. Apesar de serem descritas no epitélio do cólon excluso displasias de diferentes graus, o desenvolvimento de neoplasias de origem epitelial é extremamente raro nos doentes submetidos a operações de desvio de trânsito por enfermidades não relacionadas às DII (Kelli et al, 1997). Em revisão da literatura nas bases de dados Scielo, Lilacs e Medline não encontramos nenhum caso descrito.

### **2.3. Análise de Imagem Assistida por Computador**

O uso de sistemas de análise de imagem assistida por computador, também conhecida como morfometria computadorizada ou análise estereológica, permite a mensuração das mais variadas estruturas (Sousa et al, 2008). Com o advento de programas de análise de imagem assistida por computador, tornou-se possível determinar, de forma objetiva, parâmetros histológicos, tais como a espessura das diferentes camadas que compõe a parede cólica, bem como quantificar a expressão tecidual de diversas proteínas presentes coradas por técnicas histoquímicas ou imunohistoquímicas (Martinez et al, 2002; Sousa, 2008; Nonose, 2009; Nonose et al, 2009; Martinez et al, 2010; Chaim et al, 2014).

Nos estudos experimentais, a análise de imagem assistida por computador apresenta como vantagens, em relação aos métodos convencionais, a possibilidade de

mensurar objetivamente e de modo rápido, diferentes aspectos macroscópicos e microscópicos. A quantificação de elementos estruturais é parte fundamental nos estudos anátomo-patológicos e a possibilidade de utilizar uma unidade métrica para a comparação entre diferentes medidas possibilitam análise estatística mais fidedigna (Martinez et al, 2002).

A morfometria computadorizada já foi empregada para mensurar a espessura das diferentes camadas que compõe a parede cólica (Kissmeyer-Nielsen et al, 1994; Sousa et al, 2008; Mello et al, 2012), o volume ocupado por cada camada que compõe a parede intestinal no cólon normal e excluído de trânsito (Kissmeyer-Nielsen et al, 1994; Mello et al, 2012). Da mesma forma, a análise de imagem assistida por computador foi utilizada, com sucesso, para quantificação de edema na parede intestinal e de colágeno tecidual (Mello et al, 2012).

A quantificação de mucinas ácidas com métodos de análise de imagem já foi realizada anteriormente em modelos experimentais de colite induzida quimicamente (Rubio e Rivera, 1991), por estresse (Rubio e Huang, 1992) e em cultura de células calciformes (Phillips e Wilson, 1993). A quantificação de mucinas por morfometria computadorizada já foi realizada em modelos experimentais de CCR induzido quimicamente (Filipe, 1975). A autora estudou a expressão de mucinas ácidas pela técnica do AB constatando que após indução da colite metade dos animais de experimentação desenvolvia CCR. Encontrou expressão de mucinas ácidas em todas as áreas onde houve transformação maligna e em 32,2% das áreas sem tumor, mas com inflamação. No epitélio normal, verificou que a expressão de mucinas ácidas na mucosa cólica era 42,8%. Concluiu que a redução da quantidade de mucinas ácidas encontrava-se relacionada com o desenvolvimento do CCR e que a mensuração das mucinas ácidas pode ser considerada marcador útil para identificação de áreas com risco de desenvolvimento de câncer. A autora não utilizou técnicas capazes de separar os subtipos de mucinas ácidas. Outro estudo também quantificou, por análise de imagem, a expressão de sulfomucinas em ratos submetidos à colite por estresse, demonstrando diminuição da expressão de sulfomucinas no cólon descendente (Rubio e Huang, 1992).

Poucos estudos quantificaram com morfometria computadorizada, a expressão de mucinas neutras e ácidas e seus subtipos no cólon excluso em modelo experimental de CE (Nonose et al, 2009; Martinez et al, 2010; Chaim et al, 2014). Apenas dois estudos mensuraram o conteúdo tecidual de sulfomucinas e sialomucinas no cólon excluso por análise de imagem assistida por computador (Nonose, 2009; Martinez et al, 2010). Entretanto, em nenhum desses dois estudos o método foi utilizado para mensurar o conteúdo dos subtipos de mucinas ácidas após a intervenção com SCF. Apenas um único estudo avaliou a expressão de mucinas ácidas e neutras no cólon excluso irrigado com SCF, não analisando separadamente os dois subtipos de mucinas ácidas (Chaim et al, 2014).

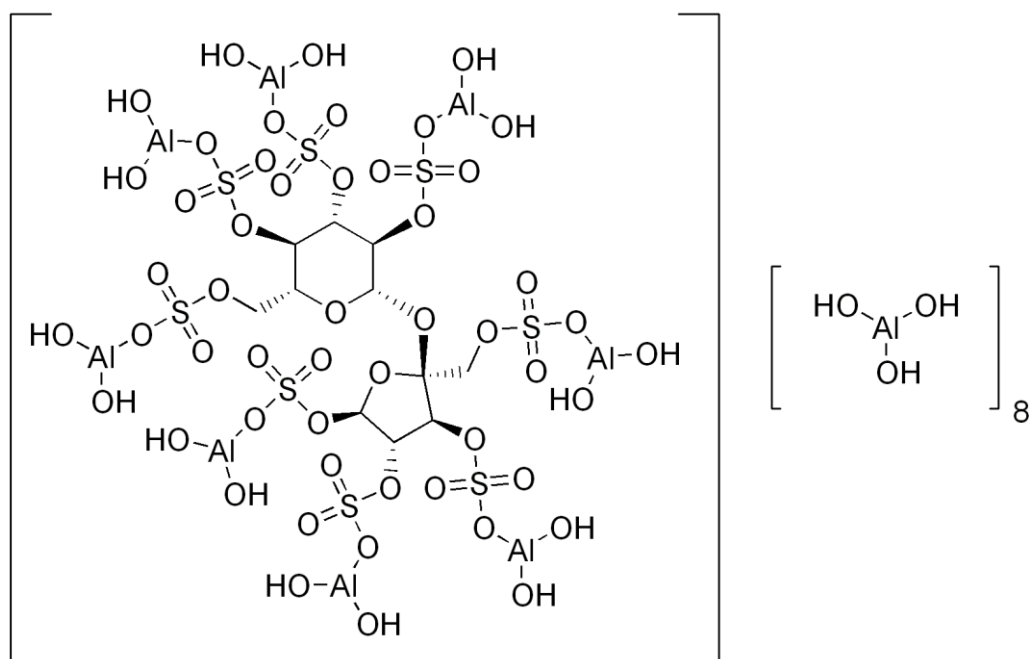
#### **2.4. Sucralfato**

O SCF é um sal de alumínio formado pelo octossulfato de sacarose e hidróxido de polialumínio, que tem uma unidade primária que pode ser representada por  $C_{12}H_{60}O_{11}[SO_3-AL_2(OH)_5]_8.nH_2O$  (Figura1). É portanto um sal de alumínio e da sacarose sulfatada.

A nomenclatura segundo a IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry):alumínio;3,4,5-trisulfooxi-2-(sulfooximetil)-6-[3,4,5-trisulfooxi 2 (sulfooximetil) oxolan-2-il] oxi-oxano;icosahidrato. Tem massa molar 2086,74 g/mol (Sweetman et al, 2009). A molécula de SCF contém 19-20% de alumínio, principalmente na forma de hidróxido de alumínio. Porém, apesar desse efeito, não pode ser considerado como agente antiácido por causar pouca alteração no pH gástrico em água ou álcool.

A ação terapêutica do SCF é exclusivamente local. Há uma forte polimerização e ligação cruzada para formar um gel pegajoso e viscoso, que se adere fortemente a superfície. A natureza poliônica de sua mucosa forma complexos com as proteínas de cargas positivas, presentes em altas concentrações em lesões de mucosa. A adesividade deste complexo propicia uma forte barreira protetora, impedindo inclusive penetração de agentes externos.





**Figura 1** – Fórmula estrutural do sucralfato (SCF)

A melhor formulação disponível comercialmente é em gel contato com a mucosa, uma vez que age por contato direto com o tecido lesado sofrer precipitação do princípio ativo, comum na suspensão (Hanstein, 1986; Hardy et al, 1993; Vaira et al, 1993; Caramella et al, 1988) O Food and Drug Administration (FDA) classifica o SCF categoria B para o uso durante a gestação, uma vez que estudos em camundongos e coelhos, utilizando doses até 50 vezes superiores às administradas demonstraram riscos ao feto, porém não há estudos em humanos.

Foi desenvolvido a partir de anticoagulantes polissacarídeos sulfatados, após a observação de que ao contrário destes, os dissacarídeos sulfatados não apresentam a atividade anticoagulante, mas tinha a capacidade de se ligar a proteínas do epitélio do trato gastrointestinal, sendo a atividade antiulcerosa péptica dependente apenas do grau de sulfatação. Inicialmente foi estudado e desenvolvido como droga antiulcerosa gastroduodenal de efeito não sistêmico, sendo um agente citoprotetor tópico com alta afinidade pela mucosa gastrointestinal (Nagashima, 1981a; Nagashima, 1981b; Tarnawski et al, 1986; Rees, 1991; Jensen e Jensen, 1992).

Após sua administração, ocorre a dissociação do alumínio ao SCF, sendo o alumínio logo absorvido, com eliminação renal (Nagashima e Yoshida, 1981; Nagashima, 1981b; Haram et al, 1987; Pai et al, 1987; Nagashima et al, 1988; Robertson et al, 1989; Santarelli et al, 2003). Já o SCF, na forma de sucrose sulfatada, não é absorvido pelo trato gastrointestinal, tornando-se altamente condensado e com consistência viscosa, com capacidade de aderir tanto à mucosa normal quanto à lesada, formando um complexo com o muco extracelular e agindo como barreira protetora na superfície mucosa (Nagashima & Yoshida, 1979; Nagashima, 1981a; Nagashima, 1981b; Bighley e Giesing, 1981; Nakazawa et al, 1981; Giesing et al, 1981; Steiner et al, 1982; Tarnawski et al, 1986; Ishimori, 1995). Tal aderência parece associar-se à ligação iônica das moléculas carregadas negativamente da droga às proteínas carregadas positivamente do muco ou mucosa lesada (Nagashima & Yoshida, 1979). Apesar das glicoproteínas do muco apresentarem carga negativa, elas contêm elementos como debris celulares, fibrina e outros componentes plasmáticos que as tornam eletricamente positivas, servindo de ligação ao SCF (Ishimori, 1995). Assim, a ligação da droga é maior quanto mais inflamação e lesão existir no tecido (Nakazawa et al, 1981; Nagashima, 1981a; Nagashima, 1981b; Samloff, 1983).

Apresenta capacidade de prevenção de lesões gástricas agudas induzidas por vários agentes ulcerogênicos em animais experimentais (Shimizu et al, 1968; Harrington e Code, 1980; Harrington et al, 1981; Tesler e Lim, 1981; Okabe et al, 1983; Ligumskv et al, 1984; Hollander et al, 1985; Nagashima et al, 1988), com índice de cura de doença ulcerosa péptica comparável aos bloqueadores de receptor H2 e inibidores da bomba de prótons (Harrington et al, 1981; Tesler e Lim, 1981; Okabe et al, 1983; Caldwell, 1985; Wu et al, 1985). É possível que apresente também efeito em longo prazo, uma vez que permite baixo índice de recidiva ulcerosa, apoiado por diversos ensaios clínicos (Miyake et al, 1980; McHardy, 1981; Hollander, 1981; Marks et al, 1991; Classen et al, 1983; Glise et al, 1985; Hallerback et al, 1985; Carling et al, 1985; Lam et al, 1987; Hui et al, 1989; Lam, 1989; Lam, 1991; Hui et al, 1992).

O mecanismo de ação do SCF ainda não se encontra totalmente elucidado. No início acreditava-se ter maior efeito tópico que sistêmico, mas parece ser multifatorial, sendo alguns mecanismos já conhecidos . O complexo formado pelo sucralfato-muco extracelular gera uma barreira a outras substâncias como o ácido clorídrico, sais biliares, e reduz a atividade da pepsina (Casparly, 1980; Marks et al, 1980; Yoshida et al, 1980; Harrington et al, 1981; Nakazawa et al, 1981; McHardy, 1981; Nagashima, 1981a; Martin et al, 1982; Graham et al, 1984; Elsborg et al, 1984; Samloff e O'Dell, 1985; Slomiany, Hurty et al, 1985; Tarnawski et al, 1986; Jensen e Jensen, 1992; Volkin et al, 1993; Copeman et al, 1994; Ishimori, 1995; Pletz et al, 2003). Além disso, o SCF exerce função citoprotetora ao aumentar a produção de muco por estimular a produção de mucinas, diminuir a degradação do muco pelo ácido, aumentar a secreção de bicarbonato, aumentar a síntese de prostaglandina, diminuir a difusão ácida, além de acelerar a renovação das células epiteliais (Nakazawa et al., 1981; Guslandi et al, 1983; Slomiany, Takagi et al, 1985; Guslandi, 1985; Konturek et al, 1986; Tarnawski et al, 1986; Shea-Donohue et al, 1986; Crampton et al, 1987; Crampton et al, 1988; Nagashima et al, 1988; Slomiany et al, 1989; Copeman et al, 1994; Banerjee et al, 1996). Tais efeitos ocorrem principalmente em meios ácidos, mas já tendo sido comprovado sua ação em pH próximos ao 7 (Nagashima, 1981a; Graham et al, 1984; Danesh et al, 1988). O SCF também apresenta atividade antioxidante, sendo capaz de reduzir a formação de RLO produzidos por neutrófilos presentes no tecido inflamado (Laudanno et al, 1990; Wada et al, 1997).

Acreditava-se que o SCF apresentava propriedades citoprotetoras semelhantes às prostaglandinas (Okabe et al, 1983). O SCF demonstrou ser capaz, em lesões induzidas por álcool em camundongos, de elevar de forma dose dependente a produção e liberação de prostaglandina E2 (Hollander et al, 1984; Konturek et al, 1987), com potente ação sobre receptores EP3, e conseqüente aumento da secreção de muco (Scheiman et al, 1992; Devlin, 1997), reduzindo microsangramento mucoso (Konturek et al, 1986). Este estímulo à produção de prostaglandina foi confirmado ao identificar-se que o efeito protetor do SCF era bloqueado pela administração previa de indometacina, um potente inibidor da cicloxigenase (prostaglandina H2 sintase) (Hollander et al, 1985).

Outro mecanismo pelo qual o SCF acelera o processo de cicatrização epitelial é a capacidade que a droga possui de aumentar o fluxo sanguíneo na mucosa gastrointestinal de forma dose dependente (Shea-Donohue et al, 1986; Chen et al, 1989).

O sucralfato é pouco absorvido pelo trato gastrointestinal (3 a 5%), não havendo relatos de efeitos sistêmicos. Essa pequena parcela é absorvida por metabolismo hepático, com relato na literatura de apenas um caso de hepatotoxicidade (Odeh e Oliven, 2001). Entretanto pode haver alguma liberação de íons de alumínio e sulfato de sacarose. Em experiências clínicas relatadas em bula pelo fabricante, os relatos de reações adversas ao SCF foram mínimas e raramente levaram a interrupção do tratamento. Em estudo com 2500 pacientes tratados com SCF via oral foram relatados efeitos adversos em 4,7% dos casos sendo o mais frequente a constipação intestinal, devido a liberação de íons negativos de alumínio (Petersen et al, 1989; McGraw e Caldwell.1981).

Outros efeitos menos frequentes incluem náusea, prurido, sonolência, boca seca e cefaléia. Há relatos na literatura de bezoar secundário ao uso de SCF, com depósito do material em sondas enterais ou no estômago de idosos ou de recém-nascidos, na maioria das vezes internados em unidades de terapia intensiva (Guy e Ollagnier, 1999).

A capacidade do SCF em promover barreira protetora e cicatrização epitelial estimulou seu estudo na colite actínica, demonstrando resultados promissores (Kochhar et al, 1990; Kochhar et al, 1991; Kochhar et al, 1999; Gul et al, 2002; Denton et al, 2002b). Uma vez que se liga mais intensamente a epitélio lesado, tem apresentado resposta proporcional a lesão epitelial prévia ao tratamento, com estudos mostrando melhores resultados nas lesões mais extensas (O'Brien et al, 1997; Martenson et al, 2000; Kneebone et al, 2001; O'Brien et al, 2002; Kneebone et al, 2004). Com o mesmo objetivo, estudos demonstraram bons resultados clínicos, endoscópicos e histológicos no tratamento da colite actínica não restrita ao reto, agindo após administração tópica ao estimular a cicatrização e formação de uma barreira protetora nas superfícies mucosas lesadas (Denton et al, 2002a), com melhora clínica e endoscópica após o uso do SCF em relação a anti-inflamatórios (Kochhar et al, 1999).

Da mesma forma, SCF via retal em diferentes posologias mostrou-se mais eficiente no tratamento da colite actínica que sulfassalazina associada a prednisolona, com melhora clínica de 94% x 54%, e endoscópica de 71% x 47%, respectivamente, após seguimento de 4 semanas (Kochhar et al, 1999; Sanguineti et al, 2003; Phan et al, 2009). Tais resultados estimularam o uso de SCF em outras DII que cursam com formação de úlceras epiteliais (Wright et al, 1999; Matsuu-Matsuyama et al, 2006; Dehghani et al, 2012; Mendenhall et al, 2013).

Baseado no uso do SCF em doenças ulcerosas e associado ao fato da CE ser um processo inflamatório, com formação de úlceras, eventos de sangramento, e diagnóstico algumas vezes indistinguível de outras DII, levantou-se a necessidade de estudos para correlacionar a doença e uma opção terapêutica. Assim pensou-se que o uso de SCF poderia também apresentar bons resultados em seu tratamento.

Até recentemente o único estudo dos efeitos do SCF na mucosa doente dos cólons através da aplicação de enemas foi realizado em 2013. (Pereira et al, 2013). Chaim et al, (2014) avaliou os efeitos da aplicação de enemas de SCF em modelo experimental de CE, quantificando a produção de mucinas totais nos segmentos examinados, e relacionando-a tempo de exposição e a dose aplicada (Chaim et al, 2014). O autor demonstrou que o SCF foi capaz de manter a produção de mucinas pela mucosa cólica exclusiva de trânsito quando comparado a animais submetidos a intervenção com solução salina.

Até a presente data, do melhor do nosso conhecimento, os efeitos do SCF com aplicação em enemas na produção de sulfomucinas e sialomucinas, principais constituintes das mucinas ácidas, ainda não foram mensurados em doentes ou modelos experimentais de CE submetidos a intervenção com SCF.

### **3. OBJETIVOS**

- 1- Quantificar o conteúdo tecidual de mucinas ácidas totais, sulfomucinas e sialomucinas, na mucosa cólica desprovida de trânsito fecal submetida a intervenção com SCF;
- 2- Verificar se o conteúdo tecidual de sulfomucinas e sialomucinas no cólon excluído de trânsito intestinal submetido a intervenção com SCF encontra-se relacionado a concentração utilizada;
- 3- Verificar se o conteúdo tecidual de sulfomucinas e sialomucinas no cólon excluído de trânsito intestinal submetido a intervenção com SCF encontra-se relacionado ao tempo de intervenção adotado.

## **4. MÉTODO**

Este estudo obedeceu às recomendações da lei Federal N<sup>o</sup>. 11.794 e as orientações do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). O Projeto de Pesquisa recebeu a aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais em Pesquisa da Universidade Francisco (Projeto N<sup>o</sup> 22.11/07)

### **4.1. Animais de experimentação**

Foram utilizados 36 ratos Wistar machos, pesando entre 300 e 350 g provenientes do Biotério Central da Universidade São Francisco.

Os animais foram mantidos em gaiolas individuais, em ambiente climatizado, com controle de temperatura, luminosidade, umidade e ruídos. Na véspera da intervenção cirúrgica, permaneceram em jejum durante 12 horas, exceto para água. As gaiolas foram identificadas com o número, grupo e subgrupo experimental a que pertenciam e esses mesmos dados foram tatuados com tinta da China, na cauda de cada animal.

Os ratos foram alimentados sempre com a mesma ração, própria para roedores, e pesados semanalmente.

Nenhum animal morreu ou foi substituído durante o estudo.

### **4.2. Técnica Cirúrgica**

A derivação do trânsito intestinal em todos os animais foi realizada sob anestesia geral pela administração intraperitoneal de 0,1 mL/100 g de 1:1 (v/v) solução de quetamina (50 mg/mL) e xilazina (20 mg/mL). Depois de anestesiados e fixos à mesa cirúrgica, a cavidade abdominal foi aberta por incisão longitudinal mediana com 3 cm de extensão. A secção do cólon foi realizada 2 cm a jusante do ceco. Após a ligadura dos vasos da arcada marginal, seccionou-se o cólon direito no ponto escolhido, exteriorizando-se o segmento proximal, como colostomia terminal na fossa ilíaca direita, fixando-se a colostomia à pele com pontos separados de fio absorvível monofilamentar 5-0 nos quatro pontos cardinais, e entre eles. Concluída a fixação da colostomia

proximal, o segmento caudal do cólon direito foi cateterizado e irrigado com 40 mL de solução fisiológica 0,9% (SF) a 37°C, até que o efluente drenado pelo ânus não mais apresentasse resíduos fecais. Terminada a irrigação, o cateter foi removido e o cólon distal exteriorizado como uma fístula mucosa distal no hipocôndrio direito. O estoma distal foi fixado com a mesma técnica utilizada no proximal. A síntese da parede abdominal foi realizada em dois planos de sutura: peritônio e aponeurose com pontos contínuos de fio de nylon 4-0 e a pele com pontos separados com o mesmo fio.

### 4.3. Grupos experimentais

A Figura 2 mostra o algoritmo de formação dos grupos experimentais. Os 36 animais foram distribuídos aleatoriamente em três grupos experimentais com 12 ratos cada. O primeiro grupo recebeu enemas retais diários contendo solução fisiológica a 0,9% (grupo controle). O segundo e o terceiro (grupos experimentais), receberam, diariamente, enemas contendo SCF (EMS do Brasil Ltda., São Paulo, Brasil) em duas concentrações diferentes: SCF1 1,0 g/kg/dia (SCF1) e 2,0 g/kg/dia (SCF2), respectivamente. Em cada um dos grupos, seis animais foram sacrificados após duas semanas e os outros seis após quatro semanas de intervenção.

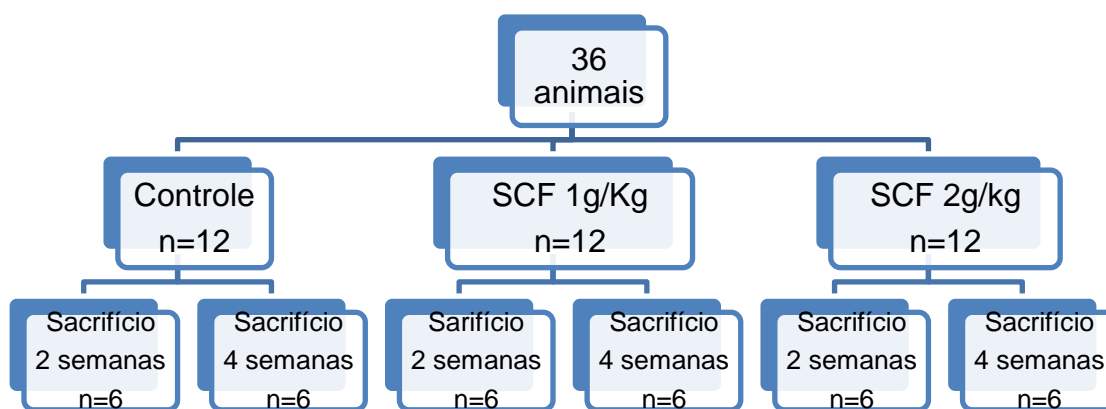


Figura 2- Subdivisão dos grupos experimentais



#### **4.4. Coleta de Amostras**

Duas ou quatro semanas após a intervenção com as substâncias propostas, os animais pertencentes a cada grupo foram anestesiados com a mesma técnica descrita anteriormente. A cavidade abdominal foi reaberta, removendo-se todo cólon submetido à irrigação com as soluções de intervenção nas concentrações propostas. O espécime extirpado foi aberto longitudinalmente pela borda antimesentérica, lavado com SF a 37°C e dividido longitudinalmente em dois fragmentos com 4 cm de comprimento. Os fragmentos longitudinais foram sempre retirados de uma distância padronizada e localizada 2 cm acima da placa de Peyer. Os dois fragmentos foram fixados com alfinetes em fragmento de cortiça com a superfície mucosa voltada para cima e, encaminhados para estudo histológico e histoquímico.

#### **4.5. Análise histológica**

Os fragmentos removidos foram submersos em solução tamponada de formaldeído a 10% (Sigma, St. Louis, MO, USA) por 24 horas, desidratados por exposição a concentrações crescentes de álcool e emblocados em parafina. De cada bloco dois cortes histológicos com 5 µm de espessura foram realizados para montagem de lâminas. Após montadas, os espécimes foram clareados, reidratados e corados pelas técnicas da hematoxilina-eosina (HE), para o diagnóstico de colite, e pelo azul de Alcian (AB) para a identificação das mucinas ácidas, segundo técnica anteriormente descrita (Nonose et al 2009). Do mesmo modo a expressão tecidual de sialomucinas e sulfomucinas foi avaliado pela técnica histoquímica da diamina de ferro alto alcian-blue (HID-AB) com metodologia, também anteriormente descrita. Com essa técnica as sulfomucinas coram-se em marrom enquanto as sialomucinas em azul.

As lâminas foram analisadas em microscópio óptico (Eclipse DS-50, Nikon Inc., Osaka, Japan), por um patologista experiente em DII, que não tinha conhecimento da origem do material e dos objetivos do estudo. Foram realizadas fotografias utilizando sistema digital de videocaptura (DS-Fi-50; Nikon Inc., Osaka, Japan) previamente acoplado ao microscópio. Para o diagnóstico de CE foram considerados os seguintes parâmetros histológicos: perda de superfície epitelial (ulcerações epiteliais), abscessos

em criptas cólicas, intensidade do infiltrado inflamatório e presença de fibrose epitelial, atribuindo de uma a quatro cruces (0 = ausente; + = leve; ++ = moderada e +++ = grave) para cada variável, que quando somadas formavam o escore de graduação inflamatória para a presença de colite. A leitura das lâminas foi realizada com magnificação final de 200x e sempre feita em local onde existissem pelo menos três glândulas cólicas íntegras e. Adotou-se como resultado final para o escore inflamatório, em cada animal, a média obtida após a leitura de três campos distintos.

#### **4.6. Quantificação do conteúdo de mucinas ácidas**

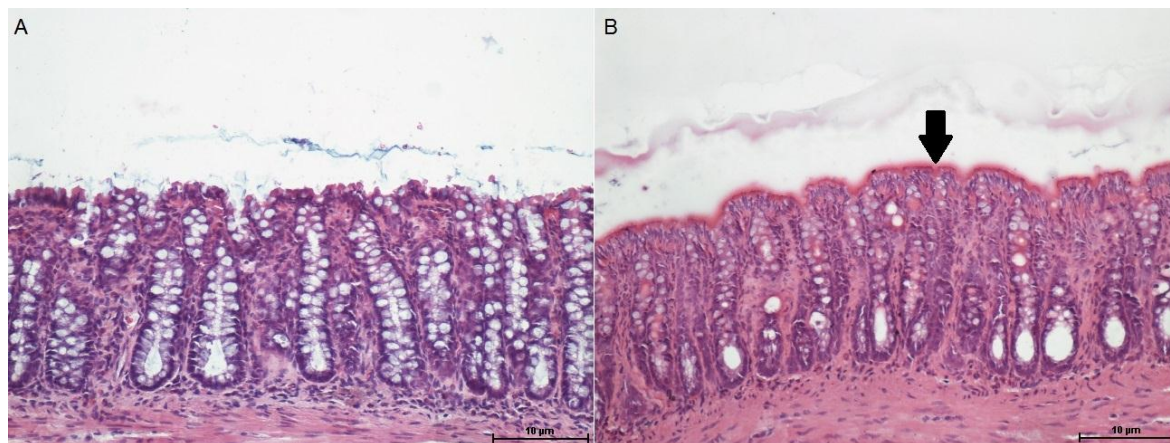
Para quantificação do conteúdo de mucinas ácidas tecidual utilizou-se o sistema de análise de imagens NIS-Elements<sup>®</sup> (Nikon Inc., Japan), versão 3.0. O programa através de histogramas de cor no sistema RGB (red, green, blue) determinava a intensidade da coloração escolhida (no caso azul claro que é a cor cujas mucinas ácidas se expressam quando se coram as lamínas pelo AB) em número de pixels por cada campo selecionado, transformando o conteúdo de final de mucinas ácidas encontradas em valores percentuais por campo (%/campo). A presença de sulfomucinas e sialomucinas foi quantificada com mesma técnica nas mesmas glândulas. Da mesma forma, a leitura foi feita em campo focal que apresentasse três glândulas íntegras e contíguas e o valor final considerado para o conteúdo das mucinas em cada animal foi à média obtida após a leitura de três campos histológicos.

#### **4.7. Análise Estatística**

O conteúdo tecidual de mucinas ácidas, sulfomucinas e sialomucinas foi descrito segundo o valor médio encontrado com o respectivo erro padrão. A comparação entre os grupos foi avaliada pelo teste de Mann-Whitney e a variância pelo teste ANOVA com pós-teste de Tukey. Em ambos os testes adotou-se nível de significância de 5% ( $p \leq 0,05$ ), utilizando-se o programa Biostat<sup>®</sup> versão 5.0.

## 5. RESULTADOS

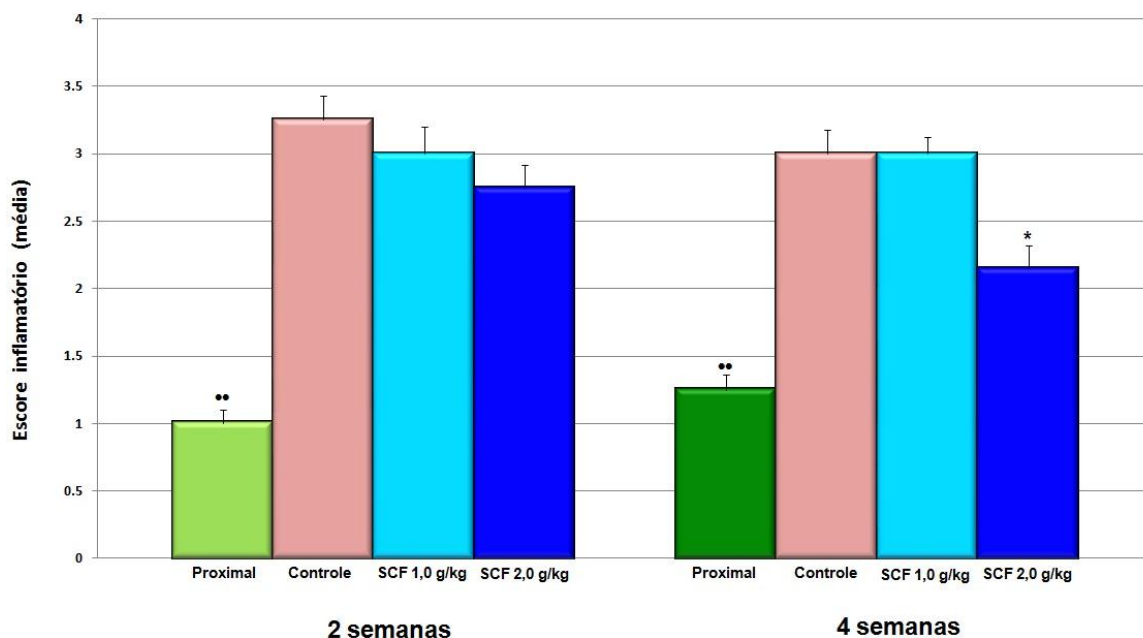
A figura 3A mostra segmento obtido do cólon irrigado com SF 0,9% por 4 semanas, enquanto a figura 3B o cólon irrigado com SCF na concentração de 2,0g/kg/dia pelo mesmo período de tempo. Verifica-se que nos animais do grupo controle existe perda epitelial evidente, formação de ulcerações epiteliais e desarranjo no alinhamento das glândulas cólicas, enquanto nos animais submetidos à intervenção com SCF 2,0g/kg/dia, a superfície epitelial encontra-se preservada, as criptas intestinais apresentam-se alinhadas, com padrão de distribuição normal e preservação da população de células caliciformes. É possível observar uma fina camada de SCF recobrindo a superfície epitelial da mucosa cólica traduzida do ponto de vista histológico por um aumento na intensidade de coloração sobre a porção luminal das células epiteliais.



**Figura 3- A:** Mucosa do cólon desprovido de trânsito após irrigação com SF 0,9% por 4 semanas (HE-100x). **B:** Mucosa do cólon desprovido de trânsito após irrigação com SCF na concentração de 2,0g/kg/dia por 4 semanas. Camada de SCF recobrindo a superfície mucosa (seta preta) (HE-200x).

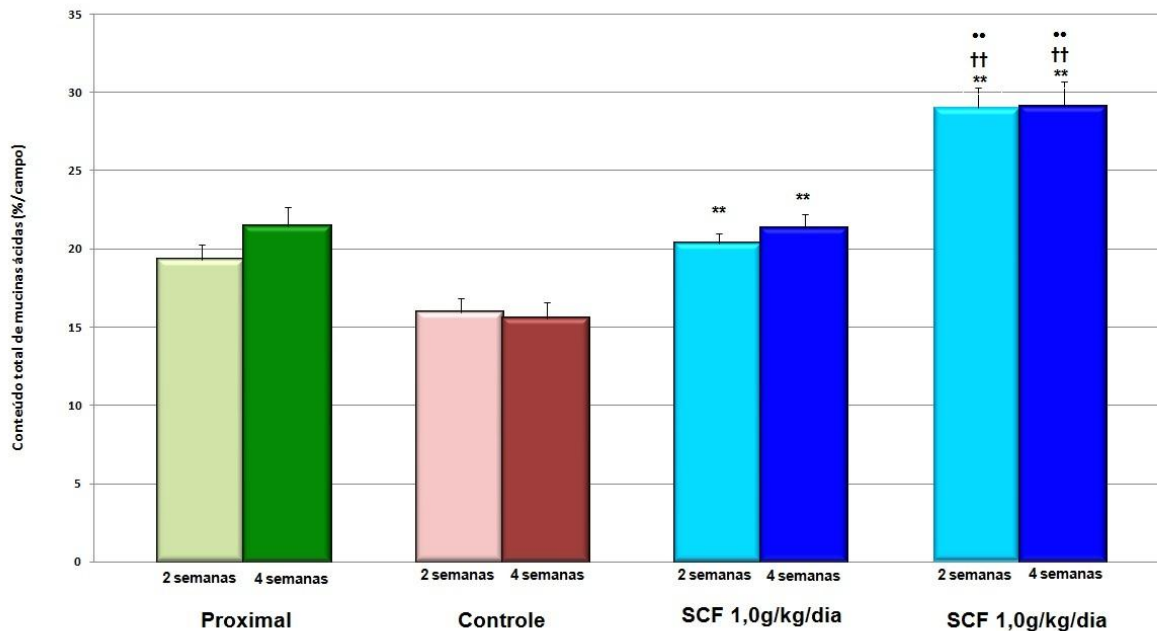
A figura 4 mostra os escores inflamatórios encontrados nos segmentos desprovidos de trânsito fecal após a intervenção com SF 0,9%, SCF 1,0 g/kg/dia e 2,0 g/kg/dia, por duas e quatro semanas. Os resultados mostram que a intervenção com SCF na concentração de 2,0 g/kg/dia no cólon desprovido de trânsito reduz o escore

inflamatório após quatro semanas de irrigação quando comparado aos animais do grupo controle ( $p = 0,03$ ).



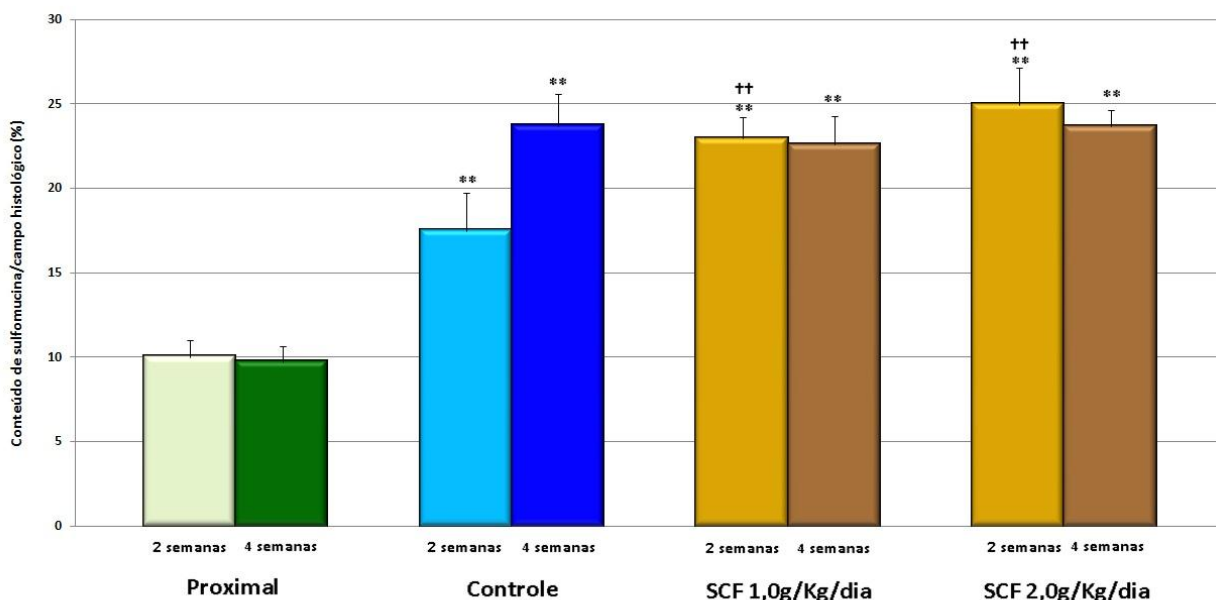
**Figura 4** – Escore inflamatório no cólon proximal e sem trânsito fecal dos animais dos grupos controle (SF 0,9%), SCF1 (SCF 1,0g/kg/dia) e SCF2 (2,0 g/Kg/dia) por duas e quatro semanas. \* = significante  $< 0,05$  (SCF2  $\times$  Controle – 4 semanas; \*\* = significante  $< 0,01$  Proximal  $<$  Controle, SCF1 e SCF2). Teste de Mann-Withney.

A figura 5 mostra o conteúdo de mucinas ácidas totais encontrados nos segmentos desprovidos de trânsito fecal após a intervenção com SF 0,9%, SCF 1,0g/kg/dia e 2,0 g/kg/dia, por duas e quatro semanas. Os resultados mostram que a intervenção com SCF na concentração de 1,0g/kg/dia e 2,0g/kg/dia no cólon desprovido de trânsito aumenta significativamente o conteúdo de mucinas ácidas após duas e quatro semanas de irrigação quando comparado aos animais do grupo controle ( $p < 0,01$ ).



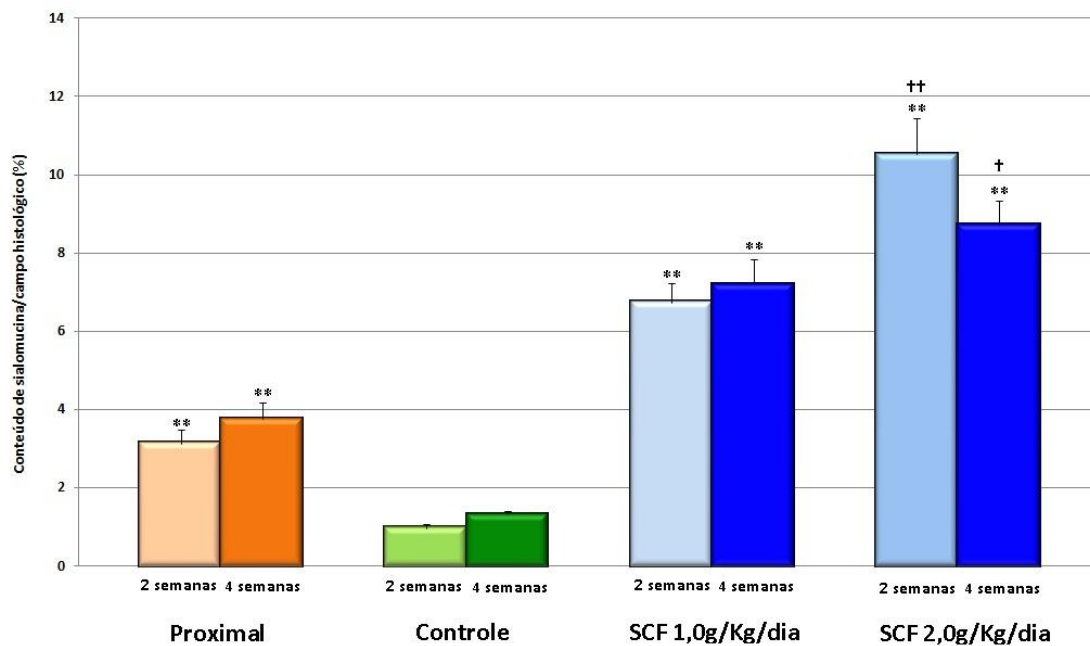
**Figura 5** – Conteúdo tecidual de mucinas ácidas no cólon proximal e sem trânsito fecal dos animais dos grupos controle, SCF1 e SCF2 submetidos a intervenção diária com SCF por 2 e 4 semanas. \*\* =  $p < 0,01$  (SCF1 × Controle; SCF2 × Controle); †† =  $p < 0,01$  (SCF1 × SCF2). Teste de Mann-Withney.

A figura 6 mostra o conteúdo de sulfomucinas encontrados nos segmentos desprovidos de trânsito fecal após a intervenção com SF 0,9%, SCF 1,0g/kg/dia e 2,0 g/kg/dia, por duas e quatro semanas. Os resultados mostram que a intervenção com SCF na concentração de 1,0g/kg/dia aumenta o conteúdo de sulfomucinas quando comparado ao cólon provido de trânsito e ao cólon sem trânsito irrigado com SF. Verificou-se que a irrigação com SCF 2,0g/kg/dia no cólon desprovido de trânsito aumenta significativamente o conteúdo de sulfomucinas após duas e quatro semanas de irrigação quando comparado ao cólon proximal e ao cólon distal dos animais do grupo controle ( $p < 0,01$ ).



**Figura 6** – Conteúdo tecidual de sulfomucinas nos animais dos grupos cólon proximal, controle, SCF1 e SCF2 submetidos a intervenção diária com SCF por 2 e 4 semanas. \*\* =  $p < 0,01$  (SCF1 x Controle; SCF2 x Controle). Teste de Mann-Withney

A figura 7 mostra o conteúdo de sialomucinas encontrados nos segmentos cólicos com trânsito fecal e nos desprovidos de trânsito após a intervenção com SF 0,9%, SCF 1,0g/kg/dia e 2,0 g/kg/dia, por duas e quatro semanas. Os resultados mostram que a intervenção com SCF na concentração de 1,0g/kg/dia e 2,0g/kg/dia no cólon desprovido de trânsito aumenta significativamente o conteúdo de sialomucinas após duas e quatro semanas de irrigação quando comparado aos animais do grupo controle e do grupo do segmento proximal do cólon, e que existe relação com a concentração utilizada após duas semanas ( $p < 0,01$ ) e quatro semanas ( $p < 0,05$ ). O segmento provido de trânsito apresenta conteúdo de sialomucinas maior que o cólon sem trânsito submetido a intervenção co SF 0,9%.



**Figura 7** – Conteúdo tecidual de sialomucinas nos animais dos grupos cólon proximal, controle, SCF1 e SCF2 submetidos a intervenção diária com SCF por 2 e 4 semanas. \*\* =  $p < 0,01$  (SCF1 × Controle; SCF2 × Controle); †† =  $p < 0,01$  (SCF2 × SCF1) após duas semanas; † =  $p < 0,05$  (SCF2 × SCF1) após 4 semanas. Teste de Mann-Whitney.

A tabela 1 mostra em média com respectivo erro padrão a variação no conteúdo de mucinas ácidas, sulfomucinas e sialomucinas nos animais submetidos a intervenção com SF 0,9%, SCF1,0 g/kg/dia e 2,0g/kg/dia segundo o tempo de intervenção (2 ou 4 semanas).

**Tabela 1** – Variação do conteúdo de mucinas ácidas, sulfomucinas e sialomucinas no cólon com trânsito e sem trânsito dos animais submetidos à intervenção com SF 0,9%, SCF1 e SCF2 após duas e quatro semanas.

	<b>Média ± Erro padrão</b>		
	<b>2 semanas</b>	<b>4 semanas</b>	<b>p</b>
<b>Mucinas ácidas</b>			
<b>Proximal</b>	19,30±0,98	21,45±1,2	NS
<b>SF 0,9%</b>	15,91±0,86	15,53±1,00	NS
<b>SCF1</b>	20,36±0,63	21,33±0,91	NS
<b>SCF2</b>	28,99±1,30	29,06±1,65	NS
<b>Sulfomucinas</b>			
<b>Proximal</b>	9,90±1,01	9,70±0,94	NS
<b>SF 0,9%</b>	17,46±2,30	23,68±1,90	<0,05*
<b>SCF1</b>	22,93±1,93	22,57±1,70	NS
<b>SCF2</b>	24,95±2,20	23,65±1,00	NS
<b>Sialomucinas</b>			
<b>Proximal</b>	3,14±0,34	3,77±0,41	NS
<b>SF 0,9%</b>	0,97±0,04	1,32±0,07	NS
<b>SCF1</b>	6,74±0,65	7,19±0,63	NS
<b>SCF2</b>	10,53±0,81	8,72±0,70	<0,05*

NS = não significante; \*=significante (p<0,05).



## 6. DISCUSSÃO

O SCF é um complexo formado pela associação do dissacarídeo octosufalto de sacarose com o hidróxido de polialumínio (Volquin et al, 1993). O fármaco é considerado um agente citoprotetor sendo utilizado há décadas para o tratamento dos processos inflamatórios do esôfago, estômago e duodeno (Lam et al, 1987). Demonstrou-se que a ação citoprotetora do SCF no epitélio gastrointestinal ocorre por diferentes mecanismos (Deplancke e Gaskins, 2001; Gaudier et al, 2009). O SCF aumenta a espessura da camada de muco que recobre a mucosa gastrointestinal, incrementa o fluxo sanguíneo à mucosa, preserva a viabilidade celular, estimula a produção de prostaglandinas e de fatores de crescimentos endógenos relacionados à reparação tecidual (Ress, 1991). Portanto, é provável que o SCF possua duplo mecanismo de ação, em parte relacionado à interação direta da substância ou de seus componentes com a superfície lesada dos tecidos e, em parte, pelos efeitos estimulantes da reparação tecidual (Ress, 1991).

O SCF ao estimular a produção de mucinas pelas células caliciformes auxilia na proteção conferida pela camada de muco que recobre a mucosa intestinal e que representa a primeira linha de defesa contra agressão por diferentes agentes biológicos, físicos ou químicos existentes na luz intestinal (Ress, 1991). Quando em contato com ulcerações epiteliais da mucosa do trato digestivo o SCF adere-se firmemente à albumina e ao fibrinogênio existentes na superfície cruenta formando um complexo estável e insolúvel que recobre e protege a ulceração, funcionando como uma verdadeira barreira mecânica. O SCF acelera a reparação dos tecidos por estimular a migração de fibroblastos para o local onde existe a erosão na mucosa gastrointestinal (Robertson et al, 1989). Esses dois efeitos encontram-se relacionados à capacidade que a substância possui em estimular a produção de mucinas, PGE2 e FCE. O aumento na produção de PGE2, principal metabólito da COX-1 e COX-2, é capaz de regular a angiogênese local, a motilidade e a sobrevivência de células epiteliais e esse efeito é dose dependente (Slomiany et al 1994). Slomiany et al, (1989) avaliaram experimentalmente a influência da administração do SCF sobre o conteúdo,

composição e propriedades físicas do muco que recobre a mucosa gástrica. Observaram a espessura da camada de muco, viscosidade e o conteúdo de mucinas. Constataram que o SCF foi capaz de aumentar em 8% a espessura da camada de muco e 1,9 vezes sua viscosidade. Quando analisaram a produção das mucinas ácidas verificaram um aumento significativo na produção, com um aumento de 63% nas sulfomucinas e 81% nas sialomucinas (Slomiany et al, 1989). Esses resultados sugerem que os efeitos terapêuticos do SCF também estão relacionados à sua capacidade de aumentar o conteúdo de mucinas ácidas presentes camada de muco que recobre o trato gastrointestinal e, em particular, das sialomucinas (Slomiany et al, 1994).

O SCF apresenta ainda, notável ação antioxidante por inibir a produção do radical superóxido e favorecer a remoção tecidual de RLO formados durante a inflamação epitelial (Slomiany et al, 1994). Laudano et al, (1990) expondo a mucosa gastrointestinal de ratos ao  $H_2O_2$ , potente formador de RLO, mostraram que o SCF apresentou ação antioxidante, protegendo a mucosa não só pela presença do sulfato de alumínio na sua composição, como levando ao incremento da síntese de mucinas e prostaglandinas endógenas.

As bases fisiopatológicas para o desenvolvimento da CE ainda não se encontram totalmente esclarecidas (Villanacci et al, 2007). Entretanto, a maioria dos autores acredita que etiopatogenia da CE esteja relacionada à deficiência no fornecimento de AGCC a mucosa cólica exclusiva do trânsito intestinal (Wong et al, 2006). Essa possibilidade é sustentada pelos resultados de estudos mostrando que a deficiência no fornecimento de AGCC, às células da mucosa cólica desprovida de trânsito intestinal, relaciona-se ao desenvolvimento da CE, enquanto o restabelecimento do trânsito fecal ou a irrigação dos segmentos excluídos com AGCC melhora os sintomas e regridem as alterações endoscópicas e histológicas encontradas na doença (Nassri et al, 2008). Apesar do importante papel representado pela manutenção do suprimento de AGCC para evitar o desenvolvimento da CE, os mecanismos moleculares que ocasionam a lesão epitelial vêm sendo compreendidos apenas mais recentemente (Martinez et al, 2010). Do ponto de vista molecular, estudos experimentais demonstraram que a lesão

epitelial decorrente da falta no suprimento de AGCC é decorrente do estresse oxidativo tecidual ocasionado pela maior produção de RLO num local sabidamente deficiente em sistemas enzimáticos antioxidantes (Laudano et al, 1990). Uma série de estudos experimentais confirmaram que existe uma produção aumentada de RLO pelas células mucosa cólica desprovida de trânsito (Martinez et al, 2010; Caltabiano et al, 2011; Cunha et al, 2011). A maior produção dos radicais superóxido, hidroxila, e ácido hipocloroso acabam lesando os diferentes sistemas de defesa da mucosa cólica, onde a camada de muco que recobre o epitélio intestinal possui papel relevante (Pravda, 2005). O dano ocasionado a esses sistemas de defesa possibilitam a migração de antígenos e bactérias existentes na luz intestinal para a intimidade das camadas estéreis da parede cólica desencadeando o processo inflamatório encontrado na CE (Nonose et al, 2009; Martinez et al, 2010). Essa possibilidade foi confirmada com os resultados de estudo experimental mostrando que é possível desencadear o aparecimento de lesões epiteliais semelhantes às encontradas na CE pela aplicação de enemas com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, um potente doador de RLO (Marques et al, 2010). A possibilidade que os RLO sejam as moléculas responsáveis pelo aparecimento da CE ganhou maior respaldo após demonstrar-se que a aplicação de enemas no cólon excluso com substâncias antioxidantes, como o 5-ASA, n-acetilcisteína e polifenóis encontrados no extrato aquoso de *Ilex paraguariensis* são eficazes na recuperação epitelial e, conseqüentemente no controle da doença (Cunha et al, 2011; Almeida et al, 2012; Caltabiano et al, 2011; Wong et al 2006).

Pouco se sabe em relação ao padrão de expressão e do conteúdo tecidual de mucinas nas glândulas da mucosa do cólon excluso de trânsito intestinal que desenvolve CE (Kelli et al, 1997; Nonose et al, 2009; Martinez et al, 2010). De modo geral, os resultados desses estudos mostraram que a derivação do trânsito modifica o padrão de expressão e reduz o conteúdo tecidual de mucinas neutras e ácidas existentes nas glândulas da mucosa cólica desprovida do suprimento de AGCC (Kelli et al, 1997; Nonose et al, 2009; Martinez et al, 2010). Estudos mais recentes sugerem que o estresse oxidativo resultante da exclusão intestinal, também possa ser o mecanismo molecular responsável por essas alterações (Nonose et al., 2009; Martinez et al, 2010).

Quando se mensurou o conteúdo de mucinas neutras e ácidas presentes nas glândulas do cólon provido e desprovido de trânsito verificou-se que existe redução significativa do conteúdo de mucinas ácidas nos segmentos sem trânsito fecal (Nonose et al, 2009). Posteriormente, com objetivo de avaliar se essa redução estava relacionada a um subtipo de mucinas (sulfomucinas ou sialomucinas) constatou-se que apesar de ocorrer redução de ambos os subtipos nos segmentos cólicos excluídos de trânsito, essa redução se dava principalmente à custa das sialomucinas (Martinez et al, 2010). Os autores também encontraram uma relação entre a redução no conteúdo tecidual de mucinas ácidas e maiores níveis de RLO no cólon excluído (Nonose et al, 2009; Martinez et al, 2010a; Martinez et al, 2010b).

Quando se considera que o SCF além de estimular a produção de mucinas possui atividade antioxidante parece-nos óbvio que a substância possa ser útil no tratamento da CE. Todavia, até a presente data, do melhor do nosso conhecimento, apenas dois estudos avaliaram os efeitos da aplicação de SCF em modelo experimental de CE (Pereira et al, 2013; Chaim et al, 2014). Os resultados encontrados no primeiro estudo mostraram que aplicação de clisteres no cólon excluído, contendo concentrações crescentes de SCF reduziu a perda epitelial da mucosa cólica, diminuiu a formação de úlceras epiteliais, dificultou a formação de abscessos nas criptas cólicas e reduziu o infiltrado inflamatório mucoso (Pereira et al, 2013). Os autores sugerem que a aplicação tópica (por clisteres) de SCF no cólon excluído é eficaz no tratamento das alterações histológicas encontradas na CE. Um segundo estudo experimental, recentemente publicado, os autores mediram o conteúdo total de mucinas neutras e ácidas nas glândulas cólicas comparando segmentos desprovidos de trânsito fecal submetidos a intervenção com solução salina ou concentrações crescentes de SCF por 2 e 4 semanas (Chaim et al, 2014). Os resultados mostraram que nos animais submetidos a aplicação de enemas com SCF no cólon desprovido de trânsito houve aumento significativo do conteúdo tecidual de mucinas ácidas nas glândulas cólicas e melhora da inflamação tecidual (Chaim et al, 2014). Os autores constataram ainda, que nos animais submetidos a intervenção com SCF o aumento no conteúdo glandular de mucinas ácidas é dose-dependente, porém não se modifica com o tempo de

intervenção. Concluíram que a aplicação de enemas contendo SCF é eficaz no tratamento da CE, por estimular a produção de mucinas ácidas conferindo maior proteção ao epitélio intestinal (Chaim et al, 2014). Apesar de não terem avaliado os níveis de estresse oxidativo tecidual, os autores sugerem que o SCF possa apresentar uma ação antioxidante.

Quando se consideram os principais subtipos de mucinas ácidas sintetizados pelas glândulas do epitélio cólico, apenas dois estudos experimentais avaliaram o conteúdo tecidual de sulfo e sialomucinas em modelos de CE (Keli, et al, 1997; Martinez et al, 2010). Em ambos estudos verificou-se que com o progredir do tempo de exclusão intestinal existe desaparecimento das sialomucinas, principalmente nas porções germinativas das glândulas cólicas (Keli et al, 1997; Martinez et al, 2010). Os autores atribuem esse desaparecimento das sialomucinas a intensa renovação celular decorrente da constante necessidade de repor as células especializadas, localizadas na superfície mucosa, pelo intenso processo inflamatório. Apesar das evidências clínicas e experimentais mostrando que a aplicação de enemas com SCF possa ser benéfica para o tratamento da CE, nenhum estudo clínico ou experimental verificou se os efeitos terapêuticos da substância possam estar relacionados ao estímulo da síntese de sulfomucinas e sialomucinas pelas células da mucosa cólica sem trânsito intestinal. Quando se considera este ponto de vista o presente estudo é inédito na literatura

Ao analisamos os resultados encontrados no presente estudo, semelhante ao anteriormente descrito, confirmamos que a aplicação diária de clisteres com SFC no colón excluso de trânsito diminui a intensidade da inflamação da mucosa cólica apenas quando se utiliza concentrações mais elevadas da substância e por tempo mais prolongado. Adotando a escala de escore proposta verificamos que nos animais submetidos a intervenção com SCF existe redução significativa no grau de inflamação tecidual apenas quando utilizamos a dose de 2,0g/kg/dia por 4 semanas. Portanto, o efeito do SCF mostrou-se diretamente relacionado à concentração e ao tempo de intervenção proposto. Estes achados confirmam os resultados de estudo anterior (Chaim et al., 2014).

Quando comparamos o escore de graduação inflamatória no cólon sem trânsito submetido a intervenção com SCF com o cólon provido de trânsito fecal verificamos que, independente da dose empregada, o grau de inflamação tecidual foi menor no cólon com trânsito preservado. Este resultado parece confirmar a importância do suprimento regular de AGCC para manutenção da integridade epitelial. Apesar da intervenção com SCF melhorar o escore inflamatório, quando comparado com os animais submetidos a intervenção com SF0,9%, ainda existe algum grau de inflamação na mucosa cólica. É possível que essa melhora possa estar relacionada a proteção mecânica, ao estímulo na produção de mucinas e aos efeitos antioxidantes do SCF. Contudo, nossos resultados sugerem que a aplicação isolada do SCF sem oferecimento concomitante de soluções ricas em AGCC ainda não é suficiente para reduzir o grau de inflamação mucosa a níveis semelhantes aos existentes no cólon provido de trânsito. Esses achados parecem confirmar a importância do conteúdo intestinal e da flora bacteriana existente na luz do cólon para a manutenção da integridade do epitélio intestinal (Souza et al, 2008).

Neste estudo, optamos por realizar a intervenção por um período máximo de 4 semanas, pois revisando a literatura especializada constatamos que esse é o período de tempo mais adotado nos estudos anteriores (Marques et al, 2010; Cunha et al, 2011; Almeida et al, 2012; Caltabiano et al, 2011; Pereira et al, 2013; Chaim et al, 2014). Entretanto, é sabido que o processo inflamatório na mucosa cólica piora com o decorrer do tempo de exclusão de trânsito fecal (Martinez et al, 2010). Novos estudos, avaliando os efeitos do SCF na melhora da inflamação tecidual, adotando um período de exclusão maior, ainda são necessários para verificar se a aplicação de enemas contendo SCF, por períodos mais prolongados é capaz de melhorar a inflamação mantendo resposta clínica sustentada. Não obstante a falta de estudos em modelos de CE, autores que utilizaram o SCF em portadores de colite actínica e colite ulcerativa mostraram que os efeitos anti-inflamatórios e a recuperação epitelial tornaram-se mais evidentes com o progredir do tempo de aplicação (Kochhar et al, 1990; Wrigth et al, 1999). No momento, estamos avaliando os efeitos do SCF no cólon submetido à exclusão do trânsito por

12,18 e 36 semanas. Os resultados iniciais parecem confirmar a relação entre melhora do grau de inflamação epitelial e o tempo de intervenção.

Verificamos que a aplicação de clisteres contendo SCF na concentração de 2,0 g/kg/dia aumentou significativamente o conteúdo total de mucinas ácidas no cólon sem trânsito fecal quando comparado aos animais do grupo tratado com SF 0,9%. Estes resultados confirmam os achados de estudo anteriormente publicado (Chaim et al, 2014). A aplicação de clisteres com SCF na concentração de 2,0 g/kg/dia aumentou significativamente o conteúdo total de mucinas ácidas no cólon sem trânsito fecal quando comparado aos segmentos cólicos com trânsito intestinal preservado. Esses achados sugerem que o SCF em dose elevadas estimule a produção de mucinas pela mucosa cólica. Quando utilizamos concentrações menores de SCF (1,0 g/kg/dia) verificamos que houve aumento no conteúdo de mucinas ácidas em relação aos animais que sofreram intervenção com SF 0,9%. Todavia, não encontramos diferença no conteúdo total de mucinas ácidas quando utilizamos a concentração de 1,0 g/kg/dia comparada ao cólon provido de trânsito, independente do tempo de intervenção. Desse modo constatamos que o aumento no conteúdo de mucinas ácidas nos animais submetidos a intervenção com SCF encontra-se diretamente relacionado à dose utilizada. Várias são as explicações possíveis para explicar a ação do SCF no conteúdo de mucinas ácidas nas glândulas da mucosa cólica desprovida de trânsito fecal. O SCF é capaz de estimular a produção de mucinas pelo epitélio cólico. A substância apresenta efeito mecânico protetor sobre a mucosa cólica dificultando o contato e penetração de antígenos e bactérias nas camadas estereis da parede intestinal diminuindo com isso a agressão oriunda do lúmen cólico e, conseqüentemente, o dano epitelial. O SCF pode apresentar eventual efeito antimicrobiano no cólon submetido à intervenção, reduzindo a população bacteriana e a possibilidade de invasão das demais camadas da parede cólica reduzindo dessa forma, o processo inflamatório. Como o SCF apresenta efeitos estimulantes à produção de PGE<sub>2</sub>, FCE, além de aumentar o fluxo sanguíneo local, é possível que o aumento na produção de mucinas ácidas possa estar relacionado a essas propriedades da substância. Outra possibilidade é que a fração glicídica da molécula de SCF possa estar agindo como substrato energético

estimulando as células das glândulas da mucosa a sintetizar mais mucinas o que não ocorre no cólon irrigado com solução salina. No momento, estamos avaliando a flora bacteriana no cólon excuso submetido a intervenção com SCF para verificar se a substância possui ação antimicrobiana.

Estudos anteriores mostraram que o conteúdo de sulfomucinas diminui significativamente nos segmentos desprovidos de trânsito intestinal quando comparado aos segmentos com trânsito preservado (Martinez et al, 2010). No presente estudo encontramos aumento no conteúdo de sulfomucinas nos animais submetidos a intervenção com SCF, independente da dose empregada e do tempo de intervenção, quando comparado com o cólon provido de trânsito intestinal. Esse achado sugere que a substância é capaz de aumentar a síntese desse subtipo de mucina ácida. Quando comparamos o efeito do SCF em relação aos segmentos sem trânsito submetidos a intervenção com SF 0,9%, verificamos que o aumento das sulfomucinas estava relacionado ao emprego de concentração mais elevada. Quando se considera os resultados encontrados em estudos anteriores mostrando que a exclusão fecal impõe uma redução significativa na produção de sulfomucinas nos segmentos excusos de trânsito fecal, os resultados do presente estudo mostram que o SCF é uma substância capaz de estimular a produção de sulfomucinas pelas células da mucosa cólica (Martinez et al, 2010). Do ponto de vista prático, o aumento da eficiência da barreira mucosa epitelial favorece a proteção mucosa contra agentes agressivos provenientes da luz intestinal.

Utilizando um modelo experimental semelhante ao utilizado neste estudo demonstrou-se anteriormente que a exclusão fecal ocasiona o desaparecimento das sialomucinas no epitélio intestinal (Martinez et al, 2010). No presente estudo, verificamos que o SCF aumentou expressivamente o conteúdo tecidual de sialomucinas, justamente o subtipo de mucina ácida que apresenta a maior redução no cólon excuso (Martinez et al, 2010). Estudos anteriores já chamavam a atenção para o fato de que o SCF estimula, principalmente, a produção das mucinas ricas em ácido siálico (Slomiany et al, 1989). Como as mucinas ácidas são encontradas nas porções germinativas das glândulas cólicas é possível que o SCF, protegendo às células



especializadas localizadas na porção apical das glândulas cólicas, diminua a necessidade de renovação celular na zona germinativa (região rica em sialomucinas) mantendo a produção de sialomucinas estável. É possível que a molécula do SCF tenha maior afinidade pelas células ricas em sialomucinas e estimule de um modo mais eficiente as células produtoras desse subtipo de mucina ácida (Slomiany et al, 1989). É possível que o aumento maior na produção de sialomucinas esteja relacionado a maior produção de PGE2 e FCE substâncias relacionadas ao estímulo proliferação celular na zona germinativas das criptas intestinais. Estudos histológicos e bioquímicos avaliando o conteúdo tecidual de PGE2 e FCE, em animais submetidos à derivação intestinal e tratados com SCF ainda são necessários para avaliar essa possibilidade.

É sabido que o SCF apresenta atividade antioxidante e que a derivação intestinal aumenta significativamente a produção de RLO (Laudanno et al, 1990; Wada et al, 1997; Martinez et al, 2010). Da mesma forma como foi demonstrado com outras substâncias com atividade antioxidante (5-ASA, n-acetilcisteína e extrato aquoso de *Ilex paraguayensis*) é possível que o SCF também possua aos mesmos efeitos antioxidantes sobre a mucosa exclusiva de trânsito, impedindo a agressão epitelial por RLO e a infiltração neutrofílica (Cunha et al, 2011; Almeida et al, 2012; Caltabiano et al, 2011). Os resultados de estudo ainda não publicado onde mensuramos os níveis de estresse oxidativo tecidual, pela dosagem de malondialdeído, e a intensidade da infiltração neutrofílica, pelos níveis teciduais de mieloperoxidase, mostraram que a intervenção com SCF reduziu os níveis de lipoperoxidação de membranas (estresse oxidativo) assim como a infiltração neutrofílica. Esses achados parecem confirmar a ação antioxidante do SCF na CE. Cabe destacar que esses efeitos mostraram-se relacionados a melhora da agressão epitelial e ao aumento do conteúdo tecidual de mucinas ácidas, particularmente de sialomucinas.

Como se observa, todos esses questionamentos ainda merecem estudos complementares, pois ainda existem dúvidas com relação aos mecanismos de ação do SCF no cólon excluso, não obstante, os resultados do presente estudo mostrarem que a aplicação tópica da substância melhora o processo inflamatório e aumenta a

produção de mucinas ácidas, justamente o tipo de mucina mais reduzido após a exclusão do trânsito intestinal em modelos de CE (Martinez et al, 2010).

Do ponto de vista prático o resultados encontrados sugerem que a aplicação de clisteres contendo SCF pode ser considerada uma estratégia válida para o tratamento da CE. A aplicação de enemas com SCF pode minimizar o sofrimento de enfermos que já convivem com os dissabores da presença do estoma.

## **7. CONCLUSÕES**

1. A aplicação diária de enemas contendo SCF aumenta o conteúdo tecidual de mucinas ácidas totais, sulfomucinas e sialomucinas em modelo experimental de CE;
2. A aplicação de enemas contendo SCF aumenta o conteúdo das sialomucinas quando a dose aplicada foi de 2g/Kg/dia;
3. A irrigação do cólon excluso com enemas contendo SCF preserva o conteúdo de sulfomucinas e sialomucinas com o transcorrer do tempo de intervenção.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida, M.G; Pereira, J.A; Silva, C.M.G; Cunha, F.L; Marques, L.H.S; Lameiro, T.M.M; Martinez, C.A.R. Evaluation of topical n-acetylcysteine in diversion colitis. **Journal of Coloproctology**, 32: 223-231, 2012.
- Banerjee, S; El-Omar, E; Mowat, A; Ardill, J. E; Park, R. H; Watson, W; Beattie, A. D; McColl, K. E. Sucralfate suppresses Helicobacter pylori infection and reduces gastric acid secretion by 50% in patients with duodenal ulcer. **Gastroenterology**, 110:717-724, 1996.
- Bighley, L; Giesing, D. **Mechanism of action studies of sucralfate**. In: Duodenal ulcer, gastric ulcer: sucralfate, a new therapeutic concept, ed. Caspary, 1981, p. 3-12.
- Caldwell, J.R. Sucralfate in the relief of gastrointestinal symptoms associated with nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **South Med J**, 78(8):938-940, 1985.
- Caltabiano, C; Máximo, F.R; Spadari, A.P; Miranda, D.D.C; Serra, M.M; Ribeiro, M.L; Martinez C.A.R. 5-aminosalicylic acid (5-ASA) can reduce levels of oxidative DNA damage in cells of colonic mucosa with and without fecal stream. **Dig Dis Sci**, 56:1037-1046, 2011.
- Caramella, C; Colombo, P; Conte, U; Zagnoli, G. Pharmaceutical compositions in the form of stable sucralfate suspensions free of suspending agents. **EP Patent** 286 978; 1988.
- Caramella, C; Conte, U; Colombo, P. Stable sucralfate suspensions free of suspending agents. **Acta Toxicol Ther**, XVI:33-39, 1995.
- Carling, L; Glise, H; Hallerback, B. Short term treatment of acute prepyloric ulcer (PPU) - a comparison of Sucralfate and Cimetidine. **Gastroenterology**, 88(5): 1343-1347, 1985.
- Caspary, W.F. Effect of sucralfate on in vitro binding of bile acids and bile acid-induced changes of transmural potential differences in healthy subjects. **Hepatogastroenterology**, 27: suppl: 381, 1980.
- Castro, M.A; Ferreira, U; Martins, M.H; Stoppiglia, R.M; Netto Júnior, N.R. Histological and histochemical changes of the intestinal mucosa at the urothelial-enteric anastomotic site. **Int Braz J Urol**, 32(2):222-227, 2006.
- Chaim, F.M; Sato D. T; Rodrigues M. R; Dias, A. M; Pereira, J.A; Martinez, C.A.R; Evaluation of the application of enemas containing sucralfate in tissue content os neutral

and acidis mucins in experimental model of diversion colitis. **Acta Cir Bras**, 29:544-52,2014.

Chen, B.W; Hiu, W.M; Lam, S.K; Cho, C.H; Luk, C.T. Effect of sucralfate on gastric mucosal blood flow in rats. **Gut**, 30:1544-1551, 1989.

Chen, S.X; Schopfer, P. Hydroxyl radical production in physiological reactions. A novel function of peroxidase. **Eur J Biochem**, 260(3):726-35, 1999.

Chen, Y; Zhao, Y.H; Kalaslavadi, T.B. Genome-wide search and identification of a novel gel-forming mucin MUC19 in glandular tissue. **Am J Respir Cell Mol Biol**, 30: 155-165, 2004.

Classen, M; Bethge, H; Brunner, G. Effect of sucralfate on peptic ulcer recurrence: a controlled double-blind multicenter study. **Scand J Gastroenterol**, 18: suppl 83: 61-68, 1983.

Copeman, M; Matuz, J; Leonard, A.J; Pearson, J.P; Dettmar, P.W; Allen, A. The gastroduodenal mucus barrier and its role in protection against luminal pepsins: the effect of 16,16 dimethyl prostaglandin E2, carbopol-polyacrylate, sucralfate and bismuth subsalicylate. **J Gastroenterol Hepatol**, 9(1):S55–S59, 1994.

Crampton, J.R; Gibbons, L.C; Rees, W.D. Effects of sucralfate on gastroduodenal bicarbonate secretion and prostaglandin E2 metabolism. **Am J Med**, 83:14-18, 1987.

Crampton, J.R; Gibbons, L.C; Rees, W.D. Stimulation of amphibian gastroduodenal bicarbonate secretion by sucralfate and aluminium: role of local prostaglandin metabolism. **Gut**, 29:903-908, 1988.

Cunha, F.L; Silva, C.M.G; Almeida, M.G; Lameiro, T.M.M; Marques, L.H.S; Margarido, N.F; Martinez, C.A.R. Reduction in oxidative stress levels in the colonic mucosa without fecal stream after the application of enemas containing aqueous Ilex paraguariensis extract. **Acta Cir Bras**, 26:289-296, 2011.

Danesh, B.J.Z; Duncan, A; Russel, R.I; Mitchell, G. Effect of intragastric pH on mucosal protective action of sucralfato. **Gut**, 29, 1379-1385, 1988.

Dehghani, S.M; Malekpour, A; Haghighat, M. Solitaryrectal ulcer syndrome in children: a literature review. **World J Gastroenterol**, 18:6541-6545, 2012.

Denton, A.S; Andreyev, H.J.N; Forbes, A; Maher, E.J. Systematic review for non-surgical interventions for the management of late radiation proctitis. **Br J Cancer**, 87: 134-143, 2002.

Denton, A.S; Andreyev,H.J.N; Forbes, A; Maher, E.J. Nonsurgical interventions for late

radiation proctitis in patients who have received radical radiotherapy to the pelvis. **Cochrane Database Syst Rev**, 1: CD003455, 2002.

Deplancke, B; Gaskins, H.R. Microbial modulation of innate defense: goblet-cells and the intestinal mucus layer. **Am J Clin Nutr**, 73:1131S-41S, 2001.

Devlin, T. **Textbook of Biochemistry with clinical correlations**. Ed Wiley-Liss, 4th, 1997.

Distler, P; Holt, P.R. Are right and left-sided colon neoplasms distinct tumors? **Dig Dis**, 15:302-311, 1997.

Elsborg, L; Boysen, K; Bruusgaard, A; Reinicke, V. Sukralfat versus placebo ved ulcus duodeni. **Dan Med Bull**, 19: 1440-1442, 1984.

Filipe, M.I. Value of histochemical reactions for muco substances in the diagnosis of certain pathological conditions of the colon and rectum. **Gut**, 10(7):577-586, 1969.

Filipe, M.I; Dawson, I. The diagnostic value of muco substances in rectal biopsies from patients with ulcerative colitis and Crohn's disease. **Gut**, 11(3): 229-234, 1970.

Filipe, M.I. 35 sulphur uptake in the mucosa adjacent to carcinoma of the large intestine. **Histochem J**, 3(1):27-35, 1971.

Filipe, M.I. The value of a study of the mucosubstances in rectal biopsies from patients with carcinoma of the rectum and lower sigmoid in the diagnosis of premalignant mucosa. **J Clin Pathol**, 25(2):123-128, 1972.

Filipe, M.I. Mucous secretion in rat colonic mucosa during carcinogenesis induced by dimethylhydrazine. A morphological and histochemical study. **Br J Cancer**, 32(1):60-77, 1975.

Filipe, M.I. Mucins in the human gastrointestinal epithelium: a review. **Invest Cell Pathol**, 2(3)195-216, 1979.

Finnie, I.A; Dwarakanath, A.S; Taylor, B.A; Rhodes, J.M. Colonic mucins synthesis is increased by sodium butyrate. **Gut**, 36:93-99, 1995.

Gaudier, E; Forestier, L; Gouyer, V; Huet, G; Julien, R; Hoebler, C. Butyrate regulation of glycosylation-related gene expression: evidence for galectin-1 upregulation in human intestinal epithelial goblet cells. **Biochem Biophys Res Commun**, 325:1044-1051, 2004.

Gaudier, E; Jarry, A; Blottière, H.M; de Coppet, P; Buisine, M.P; Aubert, J.P; Laboissee, C; Cherbut, C; Hoebler, C. Butyrate specifically modulates MUC gene expression in

intestinal epithelial goblet cells deprived of glucose. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol**, 287(6):1168-1174, 2004.

Gaudier, E; Hoebler, C. Physiological role of mucins in the colonic barrier integrity. **Gastroenterol Clin Biol**, 30(8):965-974, 2006.

Gaudier, E; Rival, M; Buisine, M.P; Robineau, I; Hoebler, C. Butyrate enemas upregulate Muc genes expression but decrease adherent mucus thickness in mice colon. **Physiol Res**, 58(1):111-119, 2009.

Gervaz, P; Bouzourene, H; Cerottini, J.P; Chaubert, P; Benhattar, J; Secic, M. Dukes B colorectal cancer: distinct genetic categories and clinical outcome based on proximal or distal tumor location. **Dis Colon Rectum**, 44:364-372, 2001.

Giesing, D.H; Bighley, L.D; Iles, R.L. Effect of food and antacid on binding of sucralfate to normal and ulcerated gastric and duodenal mucosa in rats. **J Clin Gastroenterol**, 3: suppl 2: 111-116, 1981.

Glebov, O.K; Rodriguez, L.M; Nakahara, K; Jenkins, J; Cliatt, J; Humbyrd, C.J. Distinguishing right from left colon by the pattern of gene expression. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, 12:755-762, 2003.

Glise, H; Carling, L; Hallerback, B; Kagevi, J; Svedberg, L.E; Wahlby, L. Short term treatment of acute duodenal ulcer - a comparison of sucralfate and cimetidine. **Gastroenterology**, 88: 1396, 1985.

Glotzer, D.J; Glick, M.E; Goldman, H. Proctitis and colitis following diversion of fecal stream. **Gastroenterology**, 80(3):438-441, 1981.

Gold, D.V; Shochat, D; Miller, F. Protease digestion of colonic mucin. Evidence for the existence of two immunochemically distinct mucins. **J Biol Chem**, 256(12):6354-6358, 1981.

Goldman, H; Ming, S.C. Mucins in normal and neoplastic gastrointestinal epithelium. Histochemical distribution. **Arch Pathol**, 85:580-586, 1968.

Graham, D.Y; Sackman, J.W; Giesing, D.H; Runser, D.J. In vitro adsorption of bile salts and aspirin to sucralfate. **Dig Dis Sci**, 29: 402-406, 1984.

Greco, V; Lauro, G; Fabbrini, A; Torsoli, A. Histochemistry of the colonic epithelial mucins in normal subjects and in patients with ulcerative colitis. A qualitative and histophotometric investigation. **Gut**, 8 (5):491-496, 1967.

Gul, Y; Prasannan, S; Jabar, F; Shaker, A; Moissinac, K. Pharmacotherapy for chronic

- hemorrhagic radiation proctitis. **World J Surg**, 26: 1499-1502, 2002.
- Guslandi, M; Ballarin, E; Cambielli, M; Tittobello, A. Stimulation of mucus output: A further mode of action of sucralfato. **Gastroenterology**, 84:1177, 1983.
- Guslandi, M. Sucralfate and gastric bicarbonate. *Pharmacology*, 31: 298-300, 1985.
- Guy, C; Ollagnier, M. Sucralfate and bezoars: data from the system of pharmacologic vigilance and review of the literature. **Therapie**, 54(1):55-58, 1999.
- Habib, N.A; Dawson, P.N; Krausz, T; Blount, M.A; Kersten, D; Wood, C.B. A study of histochemical changes in mucus from patients with ulcerative colitis, Crohn's disease and diverticular disease of the colon. **Dis Colon Rectum**, 29:15-17, 1986.
- Habr-Gama, A; Teixeira, M.G; Vieira, M.J.F; Miléu, L.F; Laurino-Neto, R; Pinotti, H.W. Operação de Hartmann e suas conseqüências. **Rev bras Coloproctol**, 17(1): 5-10, 1997.
- Hallerback, B; Anker-Hansen, O; Carling, L. Short term treatment of gastric ulcer - a comparison of sucralfate and cimetidine. **Gastroenterology**, 88:1411, 1985.
- Hanstein, U; Bauer, L. Sucralfate suspension. WO Patent 86/01406; 1986.  
<http://www.patentbuddy.com/Patent/8601406>. Acesso em: 12 novembro de 2014.
- Hardy, J.G; Hooper, G; Ravelli, G.P; Steed, K.P; Wilding, I.R. A comparison of the gastric retention of a sucralfate gel and a sucralfate suspension. **Eur J Pharm Biopharm**, 39:70-74, 1993.
- Harrington, S.J; Code, C.F. Protective effects of sucralfate on gastric mucosal barrier. **Gastroenterology**, 78: 1179, 1980.
- Harrington, S.J; Schlegel, J.F; Code, C.F. The protective effect of sucralfate on the gastric mucosa of rats. **J Clin Gastroenterol**, 3: suppl 2: 129-134, 1981.
- Hollander, D. Efficacy of sucralfate for duodenal ulcers: a multicenter, double-blind trial. **J Clin Gastroenterol**, 3: suppl 2: 153-157, 1981.
- Hollander, D; Tarnawski, A; Gergely, H; Zipser, R.D. Sucralfate protection of the gastric mucosa against ethanol-induced injury: a prostaglandin-mediated process? **Scand J Gastroenterol**, 19 suppl 10(1): 97-102, 1984.
- Hollander, D; Tarnawski, A; Krause, W.J; Gcergeoly, H. Protective effect of sucralfate against alcohol-induced gastric mucosal injury in rats. Macroscopic, histologic, ultrastructural, and functional time sequence analysis. **Gastroenterology**, 88: 366-374, 1985.



- Hui, W.M; Lam, S.K; Ho, I; Branicki, F.J; Lai, C.L;Lok, A.S; Fok, J. Effect of sucralfate and cimetidine on duodenal ulcer-associated antral gastritis and *Campylobacter pylori*. **Am J Med**, 86:60-65, 1989.
- Hui, W.M; Lam, S.K; Lok, A.S; Lai, C.L. Maintenance therapy for duodenal ulcer: a randomized controlled comparison of seven forms of treatment. **Am J Med**,92:265-274, 1992.
- Ishimori, A. **History of the development of sucralfate**. In: Hollander, D; Tytgat, J.N.J. *Sucralfate, from Basic Science to the Bedside*. New York: Plenum Medical Book Company, 1995:35-45.
- Jensen, S. L; Jensen, P.F. Role of sucralfate in peptic disease. **Dig Dis Sci**, 10:153-161, 1992.
- Junqueira, L.C; Carneiro, J. **Histologia Básica**. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 11 ed., cap.15, p.283-316, 2008.
- Keli, E; Bouchoucha, M; Devroede, G; Carnot, F; Ohrant, T; Cugnenc, P.H. Diversion-related experimental colitis in rats. **Dis Colon Rectum**, 40:222-228, 1997.
- Kissmeyer-Nielsen, P; Christensen, H; Laurberg, S. Diverting colostomy induces mucosal and muscular atrophy in rat distal colon. **Gut**, 35(9):1275-1281, 1994.
- Kneebone, A; Mameghan, H; Bolin, T. The effect of oral sucralfate on the acute proctitis associated with prostate radiotherapy: a double-blind, randomized trial. **Int J Radiat Oncol Biol Phys**, 51:628-635, 2001.
- Kneebone, A; Mameghan, H; Bolin, T; Berry, M; Turner, S; Kearsley, J. Effect of oral sucralfate on late rectal injury associated with radiotherapy for prostate cancer: a double-blind, randomized trial. **Int J Radiat Oncol Biol Phys**,60:1088-1097, 2004.
- Kochhar, R; Mehta, S.K; Aggarwal, R; Dhar, A; Patel, F. Sucralfate enema in ulcerative rectosigmoid lesions. **Dis Colon Rectum**, 33:49-51, 1990.
- Kochhar, R; Patel, F; Dhar, A. Radiation-induced proctosigmoiditis. Prospective, randomized, double-blind controlled trial of oral sulfasalazine plus rectal steroids versus rectal sucralfate. **Dig Dis Sci**, 36:103-107, 1991.
- Kochhar, R; Sriram, P.V; Sharma, S.C; Goel, R.C; Patel, F. Natural history of late radiation proctosigmoiditis treated with topical sucralfate suspension. **Dig Dis Sci**, 44:973-978, 1999.

Konturek, S.J; Kwiecien, N; Obtulowicz, W; Kopp, B; Oleksy, J. Double blind controlled study on the effect of sucralfate on gastric prostaglandin formation and microbleeding in normal and aspirin treated man. **Gut**, 27:1450-1456, 1986.

Konturek, S.J; Radecki, T; Piastucki, I; Brzozowski, T; Drozdowicz, D. Gastrocytoprotection by colloidal bismuth subcitrate (De-nol) and sucralfate. Role of endogenous prostaglandins. **Gut**, 28: 201-205, 1987.

Lam, S. K; Hui, W. M; Lau, W. Y; Branicki, F. J; Lai, C. L; Lok, A. S; Ng, M. M; Fok, P. J; Poon, G. P. Sucralfate versus cimetidine in duodenal ulcer-factors affecting healing and relapse. **Scand J Gastroenterol**, Suppl. 140:61, 1987.

Lam, S. K. Implications of sucralfate-induced ulcerhealing and relapse. **Am J Med**, 86:122-126, 1989.

Lam, S. K. Treatment of duodenal ulcer with sucralfate. **Scand J Gastroenterol**, Suppl.185:22-28, 1991.

Laudanno, O.M; Bedini, O.A; Cesolari, J.A; San Miguel, P. Evidence of anti-oxidant role of sucralfate in gastric mucosal protection. **Ital J Gastroenterol**, 22:19-21, 1990.

Leppi, T.J; Spicer, S.S. The histochemistry of mucins in certain primate salivary glands. **Am J Anat**, 118(3):833-859, 1966.

Ligumsky, M; Karmeli, F; Rachmilewitz, D. Sucralfate stimulation of gastric PG E synthesis-possible mechanism to explain its effective cytoprotective properties. **Gastroenterology**,86: 1164, 1984.

Margarido, N.F; Nassri, C.G.G; Nassri, A.B; Rotta, C.M; Soares, L.A. Método de limpeza mecânica anterógrada intra-operatória de colo excluído. Estudo experimental em ratos. **Rev Col Bras Cir**, 30:42, 2003.

Marks, I.N; Wright, J.P; Denyer, M; Garish, J.A.M; Lucke, W. Comparison of sucralfate and cimetidine in the short-term treatment of chronic peptic ulcers. **S Afr Med J**, 57:567-573, 1980.

Marks, I.N; Lucke, W; Wright, J.P; Gridwaak, A.H. Ulcer healing and relapse rates after initial treatment with cimetidine or sucralfate. **J Clin Gastroenterol**,3,(2):163-165, 1981.  
Marks, I.N. Sucralfate-safety and side effects. **Scand J Gastroenterol**, 26(185):36-42, 1991.

Marques, L.H.S; Silva C.M.G; Lameiro, T.M.M; Almeida, M.G; Cunha, F.L; Pereira, J.A; Martinez C.A.R. Avaliação dos níveis de peroxidaçãolipídica em células da mucosacólica após aplicação de enemas com peróxido de hidrogênio: estudo

experimental em ratos. **Rev bras Coloproctol**, 30:272-280, 2010.

Martenson, J.A; Bollinger, J.W; Sloan, J.A. Sucralfate in the prevention of treatment-induced diarrhea in patients receiving pelvic radiation therapy: a North Central Cancer Treatment Group phase III double-blind placebo-controlled trial. **J Clin Oncol**, 18:1239-1245, 2000.

Martin, F; Farley, A; Gagnon, M; Benseman, D. Comparison of the healing capacities of sucralfate and cimetidine in the short-term treatment of duodenal ulcer: A double blind randomized trial. **Gastroenterology**, 82(3):401-405, 1982.

Martinez, C.A.R; Waisberg, J; Palma, R.T; Silva, F.Z; Cimerman, G; Goffi, F.S. Morphometric study of gastric mucosa in dogs submitted to proximal gastric vagotomy, splenectomy or proximal gastric vagotomy associated with splenectomy. **Acta Cir Bras**, 17(5):289-298, 2002.

Martinez, C.A.R; Nonose, R; Margarido, N.F; Spadari, A.P.P; Pereira, J.A; Priolli, D.G; Máximo, F.R. Quantificação da expressão de mucinas na mucosa cólica de segmentos providos e desprovidos de trânsito intestinal. Estudo experimental em ratos. **Rev bras Coloproct**, 28(1):47-48, 2008.

Martinez, C.A.R; Bartocci, P.C.M; Carmo, C.V; Pereira, J.A; Miranda, D.D.C; Ribeiro, M.L. The effects of oxidative DNA damage and mutations in the p53 protein on cells of the colonic mucosa with and without the fecal stream: an experimental study in rats. **Scand J Gastroenterol**, 45:714-724, 2010.

Martinez, C.A.R; Nonose, R; Spadari, A.P.P; Máximo, F.R; Priolli, D.G; Pereira, J.A; Margarido, N.F. Quantification by computerized morphometry of tissue levels of sulfomucins and sialomucins in diversion colitis in rats. **Acta Cir Bras**, 25: 231-240, 2010.

Martinez, C.A.R; Ribeiro, M.L; Gambero, A; Miranda, D.D.C; Pereira, J.A; Nadal, S.R. The importance of oxygen free radicals in the etiopathogenesis of diversion colitis in rats. **Acta Cir Bras**, 25:387-395, 2010.

Matsuu-Matsuyama, M; Shichijo, K; Okaichi, K; Ishii, K; Wen, C.Y; Fukuda, E; Nakayama, T; Nakashima, M; Okumura, Y; Sekine, I. Sucralfate protects intestinal epithelial cells from radiation-induced apoptosis in rats. **J Radiat Res**, 47:1-8, 2006.  
McCarthy, D.M. Sucralfate. **N Engl J Med**, 325:1017-1025, 1991.

McGraw, B. F; Caldwell, E. G. Sucralfate. **Drug Intell Clin Pharm**, 15(7-8):578-580, 1981.

McHardy, G.G. A multicenter, double-blind trial of sucralfate and placebo in duodenal

ulcer. **J Clin Gastroenterol**, 3(2): 147-152, 1981.

Mello, R.O; Silva, C.M.G; Fonte, F.P; Silva, D.L.F;Pereira, J.A; Margarido, N.F; Martinez, C.A.R. Evaluation of the number of gobletcells in the crypts of the colonic mucosa with and without fecal transit. **Rev Col Bras Cir**, 39(2):139-145, 2012.

Mendenhall, W.M; McKibben, B.T; Hoppe, B.S; Nichols, R.C; Henderson, R.H; Mendenhall, N.P. Management of radiation proctitis. **Am J ClinOncol**, 2013.

Miyake, T; Ariyoshi, J; Suzaki, T; Oishi, M; Sakai,M; Veda, S. Endoscopic evaluation of the effect of sucralfate therapy and other clinicalparameters of the recurrence rate of gastric ulcer. **Dig Dis Sci**,25:1-7, 1980.

Mortensen, P.B; Clausen, M.R. Short-chain fatty acids in the human colon: relation to gastrointestinal health and disease. **Scand J Gastroenterol**, Suppl, 216:132-148, 1996.

Nagashima, R; Yoshida, N. Sucralfate, a basic aluminum salt of sucrose sulfate. Behaviour in gastroduodenal pH. *Arzneimittelforschung*, 29:1668-1676, 1979.  
Nagashima, R. Mechanisms of action of sucralfate. **J Clin Gastroenterol**, 3:117-127, 1981.

Nagashima, R. Development and characteristics of sucralfate. **J Clin Gastroenterol**, 3(2):103-110, 1981.

Nagashima, R; Hoshino, E; Hinohara, Y; Sakai, K; Iaa, S; Nakano, H. Effect of sucralfate on ethanol-induced gastric mucosal damage in the rat. **Scand J Gastroenterol**,18(83):17-20, 1988.

Nakazawa, S; Nagashima, R; Samloff, I.M. Selective binding of sucralfate to gastric ulcer in man. **Dig Dis Sci**,26:297-300, 1981.

Nassri, C.G.G; Margarido, N.F; Nassri, A.B; Rotta, C.M; Soares, L.A. **Modelo experimental de colite por exclusão**. XXIV Fórum de Pesquisa do Colégio Brasileiro de Cirurgiões. Rio de Janeiro, Brasil, 2003.

Nassri, C.G.G; Nassri, A.B; Favero, E; Rotta, C,M; Martinez, C.A.R; Margarido, N.F. Influência da irrigação de soluções nutricionais no colo excluído de trânsito intestinal: estudo experimental em ratos. **Rev bras Coloproctol**, 28:306-314, 2008.

Nonose, R; Spadari, A.P.P; Priolli, D.G; Máximo, F.R; Pereira, J.A; Martinez, C.A.R. Tissue quantification of neutral and acid mucins inthe mucosa of the colon with and without fecal stream in rats. **Acta Cir Bras**,24: 267-275, 2009.

O'Brien, P.C; Franklin, C.I; Dear, K.B. A phase IIIdouble-blind randomised study of

rectal sucralfate suspension in the prevention of acute radiation proctitis. **Radiother Oncol**,45:117-123, 1997.

O'Brien, P.C; Franklin, C.I; Poulsen, M.G. Acute symptoms, not rectally administered sucralfate, predict for late radiation proctitis: longer term follow-up of a phase III trial—Trans-Tasman Radiation Oncology Group. **Int J Radiat Oncol Biol Phys**, 54:442-449, 2002.

Odeh, M; Oliven, A. Hepatotoxicity related to sucralfate. **Hepatol Res**, 20(2):255-258, 2001.

Ogata, S; Uehara, H; Chen, A; Itzkowitz, S.H. Mucingene expression in colonic tissues and cell lines. **Cancer Res**, 52(21):5971-5978, 1992.

Okabe, S; Takeuchi, K; Kulimi, H; Kanno, M; Kawashimat, M. Effects of an antiulcer drug. Sucralfate a basic alluminium salt of sulfated disaccharide on experimental gastric lesions and gastric secretion in rats. **Dig Dis Sci**, 28:1034-1042, 1983.

Ono, K; Katsuyama, T. Mucosubstance histochemistry of the normal mucosa and epithelial neoplasms of the large intestine. **Acta Pathol Jpn**, 35(2): 281-297, 1985.

Pereira, J.A; Rodrigues, M.R; Sato, D.T; Silveira Júnior, P.P; Dias, A.M; Martinez, C.A.R. Evaluation of sucralfate enema in experimental diversion colitis. **J Coloproct**, 33(4):182-190, 2013.

Petersen, J.M; Caride, V.J; Prokop, E.K; Troncale, F.J; McCallum, R.W. Sucralfate delays gastric emptying of liquids and solids in duodenal ulcer patients. **Int J Rad Appl Instrum B**, 16(4):389-395, 1989.

Phan, J; Swanson, D.A; Levy, L.B; Kudchadker, R.J; Bruno, T.L; Frank, S.J. Late rectal complications after prostate brachytherapy for localized prostate cancer. **Cancer**, 115(9):1827-1839, 2009.

Phillips, T.E; Wilson, J. Morphometric analysis of mucous granule depletion and replenishment in rat colon. **Dig Dis Sci**, 38(12): 2299-2304, 1993.

Pletz, M.W; Preechachatchaval, V; Bulitta, J; Allewelt, M; Burkhardt, O; Lode, H. ABT-773: Pharmacokinetics and Interactions with Ranitidine and Sucralfate. **Antimicrob Agents Chemother**,47(3):1129-1131, 2003.

Porchet, N; Buisine, M.P; Desseyn, J.L; Moniaux, N;Nollet, S; Degand, P; Pigny, P; Van Seuningen, I; Laine, A; Aubert, JP. MUC genes: a superfamily of genes? Towards a functional classification of human apomucins. **J Soc Biol**, 193(1): 85-99, 1999.

Pravda, J. Radical induction theory of ulcerative colitis. **World J Gastroenterol**, 11:2371-2384, 2005.

Rees, W.D; mechanisms of gastroduodenal protection by sucralfate. **Am J Med**, 91(2A):58S-63S,1991.

Robertson, J. A; Salusky, I.B; Goodman, W.G; Norris, K.C; Coburn, J.W. Sucralfate, intestinal aluminum absorption, and aluminium toxicity in a patient on dialysis. **Ann Intern Med**,111:179-181, 1989.

Roediger, W.E. Anaerobic bacteria, the colon and colitis. **Aust N Z J Surg**, 50(1): 73-75, 1980.

Roediger, W.E. Utilization of nutrients by isolated epithelial cells of the rat colon. **Gastroenterology**, 83(2):424-429, 1982.

Roediger, W.E; Rae, D.A. Trophic effect of short chain fatty acids on mucosal handling of ions by the defunctioned colon. **Br J Surg**, 69(1):23-25, 1982.

Roediger, W.E; Nance, S. Metabolic induction of experimental ulcerative colitis by inhibition of fatty acid oxidation. **Br J Exp Pathol**, 67(6):773-782, 1986.

Roediger, W.E. The starved colon - diminished mucosal nutrition, diminished absorption, and colitis. **Dis Colon Rectum**, 33(10):858-862, 1990.

Rubio, C.A; Rivera, F. Quantification of acid mucins in the descending colon of rats having simultaneously growing colonic tumors. **APMIS**,99(11):993-996, 1991.

Rubio, C.A; Huang, C.B. Quantification of the sulphomucin-producing cell population of the colonic mucosa during protracted stress in rats. **In Vivo**, 6(1):81-84, 1992.

Sakata, T; von-Engelhardt, W. Luminal mucin in the large intestine of mice, rats and guinea pigs. **Cell Tissue Res**, 219(3):629-635, 1981.

Samloff, I.M. Inhibition of peptic aggression by sucralfate. The view from the ulcer crater. **Scand J Gastroenterol**, 18(83):7-11, 1983.

Samloff, I.M; O'Dell, C. Inhibition of peptic activity by sucralfate. **Am J Med**,79(2):15-18, 1985.

Sanguineti, G; Franzone, P. Marcenaro, M; Foppiano,F; Vitale, V. Sucralfate versus mesalazine versus hydrocortisone in the prevention of acute radiation proctitis during conformal radiotherapy for prostate carcinoma: a randomized study. **Strahlentherapie und Onkologie**, 179(7):464-470, 2003.

Santarelli, L; Gabrielli, M; Candelli, M; Cremonini, F; Nista, E. C; Cammarota, G; Gasbarrini, G; Gasbarrini, A. Post-cholecystectomy alkaline reactive gastritis: a randomized trial comparing sucralfate versus rabeprazole or no treatment. **Eur J Gastroenterol Hepatol**,15:975-979, 2003.

Scheiman, J.M; Kraus, E.R; Yoshimura, K; Boland, C.R. Effect of sucralfate on components of mucosal barrier produced by cultured canine epithelial cells in vitro. **Dig Dis Sci**, 37:1853-1859, 1992.

Shea-Donohue, T; Steel, L; Montcalm, E; Dubois, A. Gastric protection by sucralfate. Role of mucus and prostaglandins. *Gastroenterology*, 91: 660-666, 1986.  
Sheahan, D.G; Jervis, H.R. Comparative histochemistry of gastrointestinal mucosubstances. **Am J Anat**, 146(2):103-131,1976.

Shimizu, M; Ishii, A; Imai, T. Experimental studies on antiulcerous activity of basic sucrose sulfate ICG-A6J: I. Assessment of CG-A6J for antiulcerous, antacid, and anti-pepsin activities in pylorus-ligated rats and effect of CG-A6J on blood coagulability in rabbit. **Kiso-to-Rinsho (Clin Rep)**,2: 374-384, 1968.

Slomiany, B.L; Hurty, V.L.N; Laszewicz, W; Piasek, A; Slomiany, A. Effect of sucralfate on the viscosity and retardation of hydrogen ion diffusion by gastric mucus. **Gastroenterology**, 88: 1591, 1985.

Slomiany, B.L; Takagi, A; Laszewicz, W; Slomiany, A. In vitro inhibition of peptic degradation of gastric mucus by sucralfate [Abstract]. **Gastroenterology**, 88: 1590, 1985.

Slomiany, B.L; Piotrowski, J; Okazaki, K; Grzelinska, E; Slomiany, A. Nature of the enhancement of the protective qualities of gastric mucus by sucralfate. **Digestion**, 44:222-231, 1989.

Slomiany, B.L; Murty, V.L; Piotrowski, E; Morita, M; Piotrowski, J; Slomiany, A. Activation of arachidonoyl phospholipase A2 in prostaglandin-mediated action of sucralfate. **Gen Pharmacol**, 25:261-266, 1994.

Sousa, M.V; Priolli, D.G; Portes, A.V; Cardinalli, I.A; Pereira, J.A; Martinez, C.A.R. Evaluation by computerized morphometry of histopathological alterations of the colon wall in segments with and without intestinal transit in rats. **Acta Cir Bras**, 23:417-424, 2008.

Spicer, S.S; Leppi, T.J; Stoward, P.J. Suggestions for a histochemical terminology of carbohydrate-rich tissue components. *J Histochem Cytochem*, 13(7):599-603, 1965.  
Stein, G.E. Drug interaction with fluoroquinolones. **Am J Med**,6A: 81-86, 1991.

Steiner, K; Buhning, K.K; Faro, H.P; Garbe, A; Nowak, H. Sucralfate: pharmacokinetics, metabolism and selective binding to experimental gastric and duodenal ulcers in animals. **Drug Res**, 32: 512-518, 1982.

Sweetman, S.C. Martindale-The complete drug reference. 36th, **Pharmaceutical Press**, 2009.

Tamai, O; Miyazato, H; Shiraishi, M; Kusano, T; Muto Y. Morphologic and mucin histochemical analysis of transitional zones in advanced ulcerated colorectal carcinomas: potential prognostic indicators. **J Surg Oncol**, 67(2):85-89, 1998.

Tarnawski, A; Hollander, D; Krause, W.J; Zipser, R.D; Stachura, J; Gergely, H. Does sucralfate affect the normal gastric mucosa? Histologic, ultrastructural, and functional assessment in the rat. **Gastroenterology**, 90:893-905, 1986.

Tesler, M.A; Lim, E.S. Protection of gastric mucosaby sucralfate from aspirin-induced erosions. **J Clin Gastroenterol**,3(2)175-179, 1981.

Trauner, M; Grygar, S; Stauber, R.E; Brodatsch-Hausler, E; Klimpfinger, M. Carcinoembryonic antigen, cytokeratin expression and mucin composition in hyperplastic and neoplastic polyps of the colorectum. **Z Gastroenterol**, 32(11): 626-631, 1994.

Tsuiji, H; Hayashi, M; Wynn, D.M; Irimura, T. Expression of mucin-associated sulfo-Lea carbohydrate epitopes on human colon carcinoma cells. **Jpn J Cancer Res**, 89(12):1267-1275, 1998.

Tytgat, K.M; Bovelander, F.J; Opdam, F.J; Einerhand, A.W; Buller, H.A; Dekker, J. Biosynthesis of rat MUC2 in colon and its analogy with human MUC2. **Biochem J**, 309:221-229, 1995.

Tytgat, K.M; Opdam, F.J; Dekker, J. MUC2 is the prominent colonic mucin expressed in ulcerative colitis. **Gut**, 38(4):554-563, 1996.

Uchida, K; Kado, S; Ando, M; Nagata, Y; Takagi, A; Onoue, M. A mucinous histochemical study on malignancy of aberrant cryptfoci (ACF) in rat colon. **J Vet Med Sci**, 63(2):145-149, 2001.

Vaira, P; Corbelli, G; Brunetti, G. Gastric retention of sucralfate gel and suspension in upper gastrointestinal diseases. **Aliment Pharmacol Ther**, 7:531-535, 1993.

Villanacci, V; Talbot, I.C; Rossi, E; Bassotti, G. Ischaemia: a pathogenetic clue in diversion colitis? **Colorectal Dis**, 9(7):601-605, 2007.



Volkin, D.B; Verticelli, A.M; Marfia, K.E; Burke, C.J; Mach, H; Middaugh, C.R. Sucralfate and soluble sucrose octasulfate bind and stabilize acidic fibroblast growth factor. **BiochimBiophys Acta**,1203:18-26, 1993.

Wada, K; Kamisaki, Y; Kitano, M; Kishimoto, Y; Nakamoto, K; Itoh, T. Effects of sucralfate on acute gastric mucosal injury and gastric ulcer induced by ischemia-reperfusion in rats. **Pharmacology**, 54:57-63, 1997.

Williams, S.J; Munster, D.J; Quin, R.J; Gotley, D.C; McGuckin, M.A. The MUC3 gene encodes a transmembrane mucin and is alternatively spliced. **Biochem Biophys Res Commun**, 261(1):83-89, 1999.

Wong, J.M; Souza, R; Kendall, C.W. Colonic health: fermentation and short chain fatty acids. **J Clin Gastroenterol**, 40:235-243, 2006.

Wright, J.P; Winter, T.A; Candy, S; Marks, I.S. Sucralfate and methylprednisolone enemas in active ulcerative colitis: a prospective, single-blind study. **Dig Dis Sci**, 44:1899-1901, 1999.

Wu, W.C; Semble E.L; Castell, D.O. Sucralfate therapy of nonsteroidal anti-inflammatory drug induced gastritis. **Gastroenterology**, 88: 1636, 1985.

Yoshida, N; Terao, N; Nagashima, R. Sucralfate, a basic aluminum salt of sucrose sulfate. IV. Interaction with enzyme pepsin. **Arzneim-Forsch**, 30:79-80. 1980.

## 9. ANEXO I: Bula do sucralfato

PARA EVITAR O USO IMPRÓPRIO DO MEDICAMENTO, LEIA ESTA BULA COM ATENÇÃO

# Sucrafilm<sup>®</sup>

## sucralfato

### FORMAS FARMACÉUTICAS E APRESENTAÇÕES:

Sucrafilm<sup>®</sup> comprimidos mastigáveis 1 g: embalagem contendo 30 comprimidos.

Sucrafilm<sup>®</sup> suspensão oral 2g (200 mg/ml): embalagem contendo 20 flaconetes com 10 ml.

### USO ORAL

#### USO ADULTO E PEDIÁTRICO

#### COMPOSIÇÃO

Cada comprimido mastigável de Sucrafilm<sup>®</sup> contém:

sucralfato ..... 1 g

excipiente\* q.s.p. .... 1 com.

\*talco, aspartame, lactose monohidratada, sorbitol, óleo vegetal hidrogenado, essência de hortelã, dióxido de silício, estearato de magnésio.

Cada flaconete de 10 ml de Sucrafilm<sup>®</sup> suspensão oral (200 mg/ml) contém:

sucralfato ..... 2 g

veículo\* q.s.p. .... 10 ml

\*sorbitol, clorexidina digluconato, simeticona, glicerol, citrato de sódio di-hidratado, hidróxido de sódio, essência de hortelã, sacarina sódica, água purificada.

#### INFORMAÇÕES AO PACIENTE

##### Ação esperada do medicamento

Sucrafilm<sup>®</sup> é um medicamento indicado para o tratamento da úlcera duodenal, úlcera gástrica, gastrite aguda ou crônica, azia ou acidez. Sucrafilm<sup>®</sup> tem efeito citoprotetor devido à sua característica polianiónica. O sucralfato liga-se às proteínas de cargas positivas através da formação de um gel que adere à mucosa gástrica e duodenal, proporcionando uma proteção uniforme contra o ataque ácido, a pepsina e os sais biliares.

##### Cuidados de conservação

Manter à temperatura ambiente (15°C a 30°C). Proteger da luz e manter em lugar seco.

##### Prazo de validade

O número do lote e as datas de fabricação e validade estão impressas no cartucho do medicamento. Não use o medicamento com o prazo de validade vencido. Antes de usar observe o aspecto do medicamento.

##### Gravidez e lactação

Informe seu médico a ocorrência de gravidez na vigência do tratamento ou após seu término. Informar ao médico se está amamentando.

##### Cuidados de administração

Siga a orientação do seu médico, respeitando sempre os horários, as doses e a duração do tratamento.

##### Agite bem antes de usar Sucrafilm<sup>®</sup> suspensão oral.

##### Comprimido mastigável de Sucrafilm<sup>®</sup> contém aspartame.

##### Atenção fenilcetonúricos: contém fenilalanina.

##### Interrupção do tratamento

Não interromper o tratamento sem o conhecimento do seu médico.

##### Reações adversas

Informe seu médico o aparecimento de reações desagradáveis.

#### TODO MEDICAMENTO DEVE SER MANTIDO FORA DO ALCANCE DAS CRIANÇAS

##### Contraindicações e precauções

Informe seu médico sobre qualquer medicação que esteja utilizando antes do início ou durante o tratamento.

**NÃO USE MEDICAMENTO SEM CONHECIMENTO DO SEU MÉDICO. PODE SER PERIGOSO PARA A SAÚDE.**

082897



## INFORMAÇÕES TÉCNICAS

### CARACTERÍSTICAS

O complexo sucralfato formado pelo octossulfato de sacarose e hidróxido de polialumínio tem uma unidade primária que pode ser representada como  $C_{12}H_{20}O_{11}[SO_3^-AL_2(OH)^+_5]_8.nH_2O$ . É portanto, o sal de hidróxido de alumínio e da sacarose sulfatada.

Quando o pH está abaixo de 4, há substancial polimerização e ligação cruzada de sucralfato para formar um gel pegajoso, viscoso, branco-amarelado. A reação continuada com o ácido gradualmente consome  $Al_2(OH)^+_5$  até que algumas frações de octossulfato de sacarose estejam totalmente livres de  $Al_3$ . Muito embora o pH no duodeno seja muito acima de 4, o gel mantém suas propriedades viscosas e demulcentes.

A ação terapêutica do sucralfato é exclusivamente local. Isto decorre da natureza polianiônica de sua molécula, formando complexos com as proteínas de carga positiva, presente em altas concentrações nas lesões mucosas. A adesividade viscosa deste complexo no pH ácido propicia uma barreira protetora sobre a lesão ulcerosa, proporcionando proteção uniforme às mucosas gástrica e duodenal, contra penetração e ação do ácido gástrico, pepsina e bile. O sucralfato também inibe diretamente a atividade da pepsina e absorve os sais biliares. Não altera o período de esvaziamento gástrico, nem a função digestiva normal pela sua mínima atividade antiácida.

### FARMACOLOGIA

A camada de muco que reveste a mucosa gástrica e duodenal, tamponada pelo bicarbonato secretado nesta camada pelas células epiteliais subjacentes, fornece a defesa citoprotetora primária contra a digestão péptica induzida por ácido. A camada de muco retarda a difusão para dentro tanto de  $H^+$  quanto de proteínas grandes, excluindo efetivamente a pepsina e protegendo contra a erosão ácida. A erosão da mucosa e a ulceração característica de doenças pépticas resultam da hidrólise mediada por pepsina das proteínas da mucosa. A observação de que os polissacarídeos sulfatados inibem a hidrólise de proteínas mediadas por pepsina foi o ponto-chave para o desenvolvimento de agentes citoprotetores que mimetizariam este efeito. Outros estudos demonstraram que a magnitude da sulfatação, e não o peso molecular do polímero de polissacarídeo, era crítica. Observou-se que o octossulfato de sacarose inibia a hidrólise péptica *in vitro*. A reação do octossulfato de sacarose com  $Al(OH)_3$  forma uma substância viscosa, o sucralfato, que é um complexo de hidróxido de alumínio e sacarose sulfatada, insolúvel em água e tem uma fraca ação tamponadora. O sucralfato mostrou em estudos duplo-cegos promover a cicatrização de úlceras avaliadas endoscopicamente. O sucralfato atua revestindo a superfície da úlcera, ligando-se às moléculas protéicas positivamente carregadas expostas na base da úlcera. O sucralfato também liga sais biliares, que estão comprometidos com a patogenia de úlceras gástricas, proporcionando assim um outro meio pelo qual o sucralfato teria utilidade terapêutica. O sucralfato não apresenta aderência tão boa à mucosa normal. Estudos *in vitro* indicam que o sucralfato pode inibir a ação da pepsina e impedir a difusão dos íons de hidrogênio. Também estimula a secreção de muco e bicarbonato e a produção de prostaglandina  $PgE_2$  e  $Pgl_2$  que protegem as células profundas da mucosa da lesão necrótica experimental, e alguns estudos sugerem que a deficiência na produção de prostaglandinas pode contribuir para a formação de úlcera. A  $PgE_2$  e a  $Pgl_2$  também possuem um efeito inibitório sobre a secreção de ácido gástrico.

### MECANISMO DE AÇÃO

O sucralfato adere às células epiteliais e muito fortemente à base das crateras das úlceras, tornando difícil lavar o gel da cratera. Em seres humanos, o gel continua a aderir ao epitélio ulcerado por mais de 6 horas. Ele adere mais às úlceras duodenais do que às gástricas. Acredita-se que essa ligação às crateras das úlceras é a principal ação terapêutica do sucralfato. Os antiácidos e os alimentos não parecem afetar a integridade do gel aderente. As proteínas nos alimentos são adsorvidas pela sua superfície, portanto, adicionam uma camada citoprotetora.

### Farmacocinética

O sucralfato é pouco absorvido no trato gastrointestinal (3% a 5%) após a sua administração oral, não havendo relatos de efeitos sistêmicos. Entretanto, pode ocorrer alguma liberação de íons de alumínio e sulfato de sacarose. O sulfato de sacarose pode ser absorvido e excretado, principalmente pela urina. Alguns íons de alumínio podem também ser absorvidos.

A atividade da pepsina no suco gástrico é reduzida em 32% nos pacientes que recebem sucralfato ao mesmo tempo que absorve sais biliares em nível duodenal. Há indícios de que sua ação protetora da mucosa gástrica deva-se também ao aumento da concentração da prostaglandina muco protetora ( $PgE_2$ ).

### Uso clínico

O sucralfato (1 g, uma hora antes de cada refeição e ao deitar, por 4 a 8 semanas) promove a cicatrização de úlceras gástricas e duodenais tão eficazmente quanto os antagonistas dos receptores  $H_2$ . Como terapia de manutenção, o sucralfato parece ser mais eficaz na úlcera duodenal do que na gástrica.

**Sucrafilm®** 1 flaconete de 2 g ou 2 comprimidos mastigáveis de 1 g, uma hora antes das principais refeições e ao deitar, promove citoproteção da mucosa gástrica e duodenal contra hiperacidez.

O sucralfato (1 g, duas vezes ao dia) foi aprovado nos EUA para terapia de manutenção de úlcera duodenal. O sucralfato também pode ser usado para evitar a formação de úlceras de estresse. As taxas de cicatrização

e o período de tempo necessário para se obter o alívio da dor com sucralfato em geral são melhores que com os antagonistas dos receptores H<sub>2</sub>. Como a preparação é ativada por ácido, o sucralfato é mais eficaz quando administrado antes das refeições. Pela mesma lógica, o sucralfato não deve ser administrado nos 30 minutos seguintes à administração de antiácidos.

#### **INDICAÇÕES**

**Sucrafilm®** é indicado no tratamento da úlcera duodenal, úlcera gástrica e gastrite crônica.

**Sucrafilm®** tem efeito citoprotetor devido à sua característica polianiónica. O sucralfato liga-se às proteínas de cargas positivas através da formação de um gel que adere à mucosa gástrica e duodenal, proporcionando uma proteção uniforme contra o ataque ácido, a pepsina e os sais biliares.

#### **CONTRAINDICAÇÕES**

**Sucrafilm®** é contraindicado para os casos de pacientes que apresentam hipersensibilidade ao sucralfato e aos demais componentes da formulação.

#### **PRECAUÇÕES / ADVERTÊNCIAS**

A úlcera péptica é uma doença crônica recorrente. Não se deve esperar que o sucesso numa série de tratamento com sucralfato altere a frequência ou a severidade da doença, após a cicatrização.

Após a administração de sucralfato (via oral), pequena quantidade de alumínio é absorvida pelo trato gastrintestinal. Administração concomitante com outros produtos que contenham alumínio (por exemplo antiácidos) pode aumentar o nível de alumínio no organismo. Em pacientes com função renal normal recebendo estes agentes concomitantes, o alumínio é excretado pela urina. No entanto, aos pacientes com disfunção renal e nos que fazem diálise, apresentam deficiência de excreção do alumínio, podendo ocorrer um acúmulo e intoxicação por alumínio (osteodistrofia aluminica, osteomalácia, encefalopatia).

**Comprimido mastigável de Sucrafilm® contém aspartame.**

**Atenção fenilcetonúricos: contém fenilalanina.**

#### **Gravidez e lactação**

Este medicamento não deve ser utilizado por mulheres grávidas sem orientação médica.

O sucralfato é minimamente absorvido, portanto, não é esperado que seja excretado no leite materno.

Entretanto, não existem estudos sobre a excreção do sucralfato no leite materno.

#### **INTERAÇÕES MEDICAMENTOSAS**

Os estudos laboratoriais indicam que o sucralfato consegue adsorver e, portanto, reduzir a biodisponibilidade de vários fármacos, incluindo a tetraciclina, sulpirida, fenitoína, cimetidina, ranitidina, cetoconazol, ciprofloxacino, norfloxacino, ofloxacino e fluorquinolonas em estudos animais, e com digoxina e teofilina em estudos com seres humanos. As interações podem ser minimizadas pela administração de outras medicações duas horas antes da administração de sucralfato.

O sucralfato pode prejudicar a absorção de varfarina, por isso deve-se ter cautela com a administração concomitante.

O sucralfato pode reduzir os efeitos dos anticoagulantes orais.

#### **REAÇÕES ADVERSAS/COLATERAIS E ALTERAÇÕES DE EXAMES LABORATORIAIS**

Em experiências clínicas, as reações adversas ao sucralfato foram mínimas e raramente levaram a interrupção da droga. Em estudos envolvendo mais de 2.500 pacientes tratados com sucralfato, foram relatados efeitos adversos em 4,7 %, sendo o mais comum a constipação intestinal (2,2%).

#### **Efeitos colaterais**

A incidência e a gravidade dos efeitos colaterais do sucralfato são muito baixas. Apenas a constipação devida ao Al<sup>3+</sup> (em 2% dos casos) e uma sensação de boca seca (< 1%) parecem significativas. Ocasionalmente, entretanto, pacientes se queixam de desconforto abdominal. Os efeitos no metabolismo de fosfato e no Al<sup>3+</sup> plasmático são similares aos já descritos para o Al(OH)<sub>3</sub>.

#### **POSOLOGIA**

##### **Adultos**

##### **Antiulceroso**

A dose oral recomendada é de:

**Comprimido mastigável:** 1 comprimido mastigável de 1g quatro vezes ao dia ou 2 comprimidos mastigáveis de 1g duas vezes ao dia, (necessário com o estômago vazio), uma hora antes ou duas horas após as refeições e ao deitar.

**Flaconete:** 1 flaconete duas vezes ao dia, com o estômago vazio, uma hora antes ou duas horas após as refeições e ao deitar.

##### **Citoprotetor da mucosa gástrica**

A dose oral recomendada é de 1 flaconete de 2 g ou 2 comprimidos mastigáveis de 1g uma hora antes das principais refeições e ao deitar, para promover a citoproteção da mucosa gástrica e duodenal contra hiperacidez.



**Terapia de manutenção**

A dose recomendada para manutenção é de 1 g duas vezes ao dia. Doses de 250 mg três vezes ao dia e 500 mg à noite, por nove meses, tem sido efetivas na prevenção da recorrência da úlcera.

**Instruções de uso**

Antiácidos podem ser prescritos nos primeiros dias de tratamento, conforme necessário, para alívio da dor, porém não devem ser tomados dentro de meia hora antes ou após o sucralfato. Embora a cicatrização com o sucralfato possa ocorrer na primeira ou segunda semana, o tratamento deve ser continuado por pelo menos 6 semanas, a não ser que a cicatrização tenha sido demonstrada por raio X ou exame endoscópico. Nos casos resistentes podem ser necessárias até 12 semanas.

**Insuficiência renal**

Não é necessário ajuste de dosagem na insuficiência renal, uma vez que o sucralfato não é significativamente absorvido. No entanto, a absorção de alumínio tem sido reportada em pacientes com uremia. Em pacientes com excreção prejudicada o risco de acúmulo de alumínio e toxicidade são aumentados. Portanto, o sucralfato deve ser usado com precaução em pacientes com insuficiência renal crônica.

**Ajuste de dosagem durante diálise:** o ajuste de dosagem não é necessário durante a diálise, desde que a ação do sucralfato não dependa de níveis sistêmicos do fármaco. Absorção tem sido relatada em pacientes com uremia. O alumínio é ligado à proteína plasmática e à transferrina plasmática, portanto não atravessa prontamente a membrana de diálise. Caso a excreção do alumínio absorvido seja prejudicada em pacientes submetidos a diálise, o risco de acúmulo de alumínio e toxicidade aumentam. Portanto, o uso de sucralfato em pacientes dialisados requer cuidados.

**Insuficiência hepática**

Não é necessário ajuste de doses, uma vez que o sucralfato não é significativamente absorvido.

**Pacientes geriátricos**

Não é necessário o ajuste de doses para pacientes idosos.

**Crianças****Dosagem pediátrica**

Em triagens clínicas o sucralfato tem sido usado no tratamento de úlceras duodenais crônicas e esofagites de refluxo. A dose para tratamento de esofagite é 0,5 g quatro vezes ao dia para pacientes com menos de 6 anos, e 1 g quatro vezes ao dia para pacientes com mais de 6 anos. Para o tratamento de úlcera duodenal a dosagem é de 1 g quatro vezes ao dia para crianças de todas as idades. Pesquisadores informam que ajustes de dosagem para idade ou peso não são necessárias porque o sucralfato não é significativamente absorvido.

**Terapia de manutenção**

A dose de manutenção é de 1 g uma vez por noite, que deve ser administrada às crianças com idade entre 1 e 10 anos para o tratamento de úlcera duodenal crônica.

**SUPERDOSAGEM**

O risco associado a superdosagem do medicamento é mínimo. O tratamento deve ser sintomático.

**PACIENTES IDOSOS**

Não é necessário o ajuste de doses para pacientes idosos.

**VENDA SOB PRESCRIÇÃO MÉDICA**

Reg. M.S. nº: 1.3569.0617  
Farm. Resp.: Dr. Adriano Pinheiro Coelho  
CRF-SP nº 22.883

Registrado por: **EMS Sigma Pharma Ltda.**  
Rod. Jornalista F. A. Proença, km 08  
Bairro Chácara Assay  
Hortolândia/SP – CEP 13186-901  
CNPJ: 00.923.140/0001-31  
INDÚSTRIA BRASILEIRA



Fabricado por: EMS S/A.  
Hortolândia/SP

BU-485 / LAETUS-292

## 10. ANEXO II: Carta de aprovação do comitê de ética

Comitê de Ética em Pesquisa – CEP



Bragança Paulista, 22 de Novembro 2007.

### COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Projeto de Pesquisa: "Avaliação da correlação entre as alterações histológicas, histoquímicas, expressão tecidual da proteína p53 e o dano oxidativo do DNA nas células da mucosa cólica de ratos submetidos à colite de exclusão".

**Autor(es):** Dr. Carlos Augusto Real Martinez; Dr. Marcelo Lima Ribeiro; Ms. Denise G Prioli; Ms. Carlos Alvoe Fontes de Souza; Ms. José Aires Pereira.

**Instituição:** Universidade São Francisco

Prezado(a) Pesquisador(a)(s),

O Comitê de Ética em Pesquisa – CEP, da Universidade São Francisco, em reunião ordinária realizada no dia 22 de Novembro de 2007, analisou o projeto de pesquisa supracitado, sob a responsabilidade de Vossa Senhoria.

Este Comitê, acatando o parecer do relator indicado, apresenta-lhe o seguinte resultado:

**Parecer: Aprovado**

Atenciosamente,

José Pedrazzoli Júnior  
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa  
Universidade São Francisco