



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

Faculdade de Ciências Médicas

ANTONIO JOSÉ TIBURCIO ALVES JUNIOR

ANÁLISE COMPARATIVA DO CONTEÚDO TECIDUAL DE SULFOMUCÍNAS E
SIALOMUCINAS NA MUCOSA CÓLICA DESPROVIDA DE TRÂNSITO INTESTINAL
SUBMETIDA À INTERVENÇÃO COM *CURCUMA L.* (CURCUMINA): ESTUDO
EXPERIMENTAL EM RATOS

CAMPINAS

2017

ANTONIO JOSÉ TIBURCIO ALVES JUNIOR

ANÁLISE COMPARATIVA DO CONTEÚDO TECIDUAL DE SULFOMUCÍNAS E
SIALOMUCINAS NA MUCOSA CÓLICA DESPROVIDA DE TRÂNSITO INTESTINAL
SUBMETIDA À INTERVENÇÃO COM *CURCUMA L.* (CURCUMINA): ESTUDO
EXPERIMENTAL EM RATOS

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Médicas da
Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos
exigidos para a obtenção do título Mestre em Ciências

ORIENTADOR: PROF.DR. CARLOS AUGUSTO REAL MARTINEZ

CO-ORIENTADOR: PROF. DR. CLAUDIO SADDY RODRIGUES COY

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO
DEFENDIDA PELO ALUNO ANTONIO JOSÉ TIBURCIO ALVES JUNIOR, E
ORIENTADO PELO PROF. DR. CARLOS AUGUSTO REAL MARTINEZ.

CAMPINAS

2017

Agência(s) de fomento e nº(s) de processo(s): FAPESP, 2010/12492-7; CAPES, 01-P-1744/2016

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Ciências Médicas
Ana Paula de Moraes e Oliveira - CRB 8/8985

AL87a Alves Junior, Antonio José Tiburcio, 1985-
Análise comparativa do conteúdo tecidual de sulfomucinas e sialomucinas na mucosa cólica desprovida de trânsito intestinal submetida à intervenção com *Curcuma L.* (Curcumina) : estudo experimental em ratos / Antonio José Tiburcio Alves Junior. – Campinas, SP : [s.n.], 2017.

Orientador: Carlos Augusto Real Martinez.
Coorientador: Claudio Saddy Rodrigues Coy.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Colite. 2. Colo. 3. Curcumina. 4. Sialomucinas. 5. Mucinas. I. Martinez, Carlos Augusto Real. II. Coy, Claudio Saddy Rodrigues. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Comparative analysis of the tissue content of sulphomucins and sialomucins on the colonic mucosa without fecal stream submitted to intervention with *Curcuma L.* (Curcumin) : experimental study in rats

Palavras-chave em inglês:

Colitis
Colon
Curcumin
Sialomucins
Mucins

Área de concentração: Pesquisa Experimental

Titulação: Mestre em Cirurgia

Banca examinadora:

Carlos Augusto Real Martinez [Orientador]
José Vassallo
José Luis Braga de Aquino
Everton Cazzo
Caled Jaoudat Kadri

Data de defesa: 07-02-2017

Programa de Pós-Graduação: Ciências da Cirurgia

BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE MESTRADO
ANTONIO JOSÉ TIBURCIO ALVES JUNIOR

ORIENTADOR: CARLOS AUGUSTO REAL MARTINEZ
COORDENADOR: CLAUDIO SADDY RODRIGUES COY

MEMBROS:

1. PROF. DR. CARLOS AUGUSTO REAL MARTINEZ – UNICAMP

2. PROF. DR. JOSÉ VASSALLO – UNICAMP

3. PROF. DR. DR JOSÉ LUIS BRAGA DE AQUINO – PUC-CAMPINAS

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

A ata de defesa com as respectivas assinaturas dos membros da banca examinadora encontra-se no processo de vida acadêmica do aluno.

Data: 07/02/2017

DEDICATÓRIA

À minha esposa e filha pela paciência nos períodos de ausência e pelas palavras de carinho sempre que necessárias.

Aos meus pais por sempre me incentivarem a buscar meus objetivos e me ajudarem a atingi-los.

AGRADECIMENTOS

À Universidade de Campinas – UNICAMP pela oportunidade.

À Universidade São Francisco por permitir o uso do Laboratório de Investigação Médica.

À FAPESP por financiar esse projeto.

Aos acadêmicos Adrieli Heloísa Campardo Pansani e Murilo Rocha Rodrigues pela colaboração nas etapas experimentais.

Ao Professor Mestre José Aires Pereira pela realização das etapas histológicas do estudo.

Ao Professor Doutor Claudio Saddy Rodrigues Coy pelo exemplo de médico e pesquisador.

Ao professor Doutor Carlos Augusto Real Martinez por ter me aceitado como aluno e me inspirado com sua linha de pesquisa inovadora.

RESUMO

A colite de exclusão é uma doença inflamatória que acomete o segmento do intestino grosso desprovido de trânsito intestinal. Sua patogênese está relacionada à deficiência de ácidos graxos de cadeia curta as células da mucosa cólica. A deficiência do fornecimento dos ácidos graxos de cadeia curta modifica o metabolismo energético das células que passam a produzir maiores níveis de radicais livres de oxigênio. Os radicais livres de oxigênio determinam lesão tecidual por quebra dos diferentes mecanismos de defesa que formam a barreira mucosa cólica, particularmente a camada de sulfomucinas e sialomucinas que recobre o epitélio intestinal. A aplicação de clisteres com substâncias antioxidantes vêm se mostrando uma alternativa terapêutica promissora para o tratamento da enfermidade. A curcumina é uma das substâncias naturais com maior efeito antioxidante e, teoricamente, poderia ser utilizada para o tratamento da colite de exclusão.

Objetivo: Quantificar comparativamente o conteúdo tecidual de sulfomucinas e sialomucinas na mucosa cólica desprovida de trânsito fecal submetida à intervenção com curcumina, avaliando a importância da concentração utilizada e tempo de intervenção proposto.

Método: 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: 12 receberem enemas diários com solução fisiológica 0,9%, 12 com curcumina na concentração de 50 mg/kg/dia e 12 com curcumina na concentração de 200 mg/kg/dia. Cada grupo foi dividido em dois subgrupos, segundo a eutanásia ser realizada após 2 ou 4 semanas. 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). O conteúdo tecidual de ambos os subtipos de mucinas foi mensurado por análise de imagem assistida por computador.

Resultados: A intervenção com curcumina em ambas as concentrações utilizadas aumentou o conteúdo tecidual de mucinas ácidas totais. Houve aumento no conteúdo de sulfomucinas nos animais submetidos à intervenção com curcumina após duas semanas ($p < 0,00001$) e após quatro semanas ($p < 0,00001$), havendo relação com dose de aplicação. Ocorreu aumento no conteúdo de sialomucinas

relacionando-se com a concentração utilizada ($p < 0,00001$) e ao tempo de intervenção ($p < 0,00001$).

Conclusão: Enemas com curcumina aumentam o conteúdo de mucinas ácidas no cólon excluso de trânsito intestinal, apresentando dependência de dose e tempo de intervenção.

Descritores: Colite, cólon, ácidos graxos de cadeia curta, curcumina, sulfomucinas, sialomucinas.

ABSTRACT

Diversion colitis is an inflammatory disease that affects the colon segments without intestinal stream. Its pathogenesis is related to deficiency of short-chain fatty acids to colonic mucosal cells. The deficiency of short chain fatty acids modifies the energetic metabolism of the cells, producing higher levels of free radicals of oxygen. Oxygen free radicals determine tissue damage by breaking down the different defense mechanisms that form the colonic mucosal barrier, particularly the layer of sulphomucins and sialomucins that covers the intestinal epithelium. The application of clisteres with antioxidant substances has shown to be a promising therapeutic alternative for the treatment of the disease. Curcumin is one of the natural substances with the highest antioxidant effect and theoretically could be used for the treatment of diversion colitis.

Objective: To measure the tissue content of sulphomucins and sialomucins on the colonic mucosa without fecal stream submitted to intervention with curcumin 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, curcumin at 50 mg/kg/day or 200 mg/kg/day. Acid mucins were diagnosed by Alcian Blue technique. The contents of mucins were quantified by computer-assisted image analysis.

Results: Intervention with curcumin in both used concentrations increased tissue amount of total acid mucins. There was an increase in the quantity of sulphomucins in animals submitted to intervention with curcumin after two weeks ($p < 0.00001$) and after four weeks ($p < 0.00001$) and was dose related. There was an increase in sialomucins quantity, concentration ($p < 0.00001$) and time related ($p < 0.00001$).

Conclusion: Curcumin enemas increase the quantity of acid mucins in the intestinal stream excluded colon, with dose and time dependency.

Keywords: Colitis, colon, fatty acids of short chain, curcumin, sulphomucins, sialomucins.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1:	CAMADAS DA PAREDE INTESTINAL.....	18
FIGURA 2:	COMPOSTOS OBTIDOS DO EXTRATO DE <i>CURCUMA LONGA</i>	21
FIGURA 3:	TÉCNICA CIRÚRGICA.	23
FIGURA 4:	INTERVENÇÃO	24
FIGURA 5:	SUBDIVISÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS.....	24
FIGURA 6:	COLETA DAS AMOSTRAS	25
FIGURA 7:	LÂMINA MOSTRANDO HISTOLOGIA DO CÓLON NORMAL.	26
FIGURA 8:	LÂMINA MOSTRANDO HISTOLOGIA DO CÓLON EXCLUSO.....	26
FIGURA 9:	A MUCOSA CÓLICA EM SEGMENTO DESPROVIDO DE TRÂNSITO FECAL SUBMETIDA A INTERVENÇÃO COM SORO FISIOLÓGICO 0,9% POR QUARTO SEMANAS. NOTA-SE A IRREGULARIDADE DA MUCOSA, BEM COMO A BAIXA CONCENTRAÇÃO DE MUCINAS ÁCIDAS, EM ESPECIAL DE SIALOMUCINAS.	36
FIGURA 10:	A MUCOSA CÓLICA EM SEGMENTO DESPROVIDO DE TRÂNSITO FECAL SUBMETIDA À INTERVENÇÃO COM CURCUMINA 50 MG/KG/DIA POR QUARTO SEMANAS...37	37
FIGURA 11:	A MUCOSA CÓLICA EM SEGMENTO DESPROVIDO DE TRÂNSITO FECAL SUBMETIDA À INTERVENÇÃO COM CURCUMINA 200 MG/KG/DIA POR QUARTO SEMANAS. NOTA-SE A ARQUITETURA PRESERVADA DA MUCOSA E A PRESENÇA ABUNDANTE DE MUCINAS ÁCIDAS.	38

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: GRADUAÇÃO INFLAMATÓRIA.....	28
TABELA 2: INFLUÊNCIA DO TEMPO DE INTERVENÇÃO NA EXPRESSÃO TECIDUAL DE SULFOMUCINAS E SIALOMUCINAS NOS ANIMAIS SUBMETIDOS A INTERVENÇÃO COM S.F 0,9% E EXTRATO OLEOSO DE CURCUMINA NAS CONCENTRAÇÕES DE 50MG/KG/DIA E 200MG/KG/DIA.	34
TABELA 3: INFLUENCIA DA CONCENTRAÇÃO UTILIZADA NA EXPRESSÃO TECIDUAL DE SULFOMUCINAS E SIALOMUCINAS NOS ANIMAIS SUBMETIDOS A INTERVENÇÃO COM SF 0,9% E EXTRATO DE CURCUMINA NAS CONCENTRAÇÕES DE 50MG/KG/DIA E 200MG/KG/DIA APOS 2 OU 4 SEMANAS DE INTERVENÇÃO.	35

LISTA DE GRAFICOS

GRÁFICO 1: GRADUAÇÃO INFLAMATÓRIA SEGUINDO SCORE DE MOUNT SINAI HOSPITAL MODIFICADA.	31
GRÁFICO 2: CONTEÚDO TECIDUAL DE SIALOMUCINA APÓS INTERVENÇÃO COM SORO FISIOLÓGICO 0,9%, CURCUMINA 50MG/KG/DIA E CURCUMINA 200MG/KG/DIA APÓS DUAS E QUATRO SEMANAS.	32
GRÁFICO 3: CONTEÚDO TECIDUAL DE SULFOMUCINA APÓS INTERVENÇÃO COM SORO FISIOLÓGICO 0,9%, CURCUMINA 50MG/KG/DIA E CURCUMINA 200MG/KG/DIA APÓS DUAS E QUATRO SEMANAS.	33

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AB	Alcian blue
AGCC	Ácido graxo de cadeia curta
CE	Colite de exclusão
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CM	Centímetro
COBEA	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
DII	Doença inflamatória intestinal
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
G	Grama
HE	Hematoxilina-eosina
HID-AB	Diamina de ferro alto alcian-blue
KG	Kilograma
KW	Kruskal-Wallis
LIM	Laboratório de Investigação Médica
LTDA	Limitada
MG	Miligrama
ML	Millitro
RCUI	Retocolite ulcerativa intestinal inespecífica
RLO	Radicais livres de oxigênio
SF	Soro fisiológico
UNICAMP	Universidade de Campinas
μM	Micrometro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	17
3	REVISÃO DA LITERATURA	17
3.1	O epitélio colônico.....	17
3.2	Colite de exclusão	18
3.3	Estresse oxidativo	19
3.4	Sulfomucina e sialomucina	20
3.5	<i>Curcuma longa</i> (Curcumina)	20
4	MATERIAL E MÉTODO	21
4.1	Animais de experimentação	21
4.2	Técnica cirúrgica	22
4.3	Grupos experimentais.....	23
4.4	Coleta das amostras.....	24
4.5	Análise histológica	25
4.6	Graduação inflamatória.....	27
4.7	Quantificação do conteúdo de sulfomucinas e sialomucinas	28
4.8	Aspectos éticos	29
4.9	Análise estatística	30
5	RESULTADOS	30
6	DISCUSSÃO	38
7	CONCLUSÃO.....	42
	REFERÊNCIAS.....	43
	ANEXOS	51
	Carta de aprovação do Comitê de Ética	51
	Ficha de informações de segurança de produtos químicos	52
	Figura ilustrativa da <i>Curcuma longa</i>	59
	Submissão e carta de aceitação do artigo científico a Revista Acta Cirúrgica Brasileira	59

1 INTRODUÇÃO

A mucosa do cólon funciona como uma barreira de proteção, separando a grande quantidade de bactérias, antígenos e toxinas presentes no interior da luz intestinal do meio estéril [1-6]. Esse sistema de proteção é composto por uma barreira de proteção imunológica e outra mecânica [7,8].

A proteção imunológica é conferida por células do sistema imune representadas por neutrófilos, eosinófilos, basófilos, linfócitos e macrófagos, bem como por citocinas e anticorpos, formando o maior sistema linfoide do corpo humano [3-15].

A proteção mecânica, por sua vez, é formada por diferentes estruturas merecendo destaque a camada de muco que recobre o epitélio intestinal, as membranas celulares, os complexos sistemas de junções intercelulares e a membrana basal. De todas essas estruturas a camada de muco representa a primeira linha de defesa contra a agressão externa [7,16]. Sua função protetora se deve a presença de glicoproteínas com diferentes composições [1,17]. Estas tornam o muco viscoso, lubrificando a mucosa cólica, facilitando a progressão e impedindo o traumatismo mecânico das fezes [18]. A camada de mucina possui a propriedade de impedir a aderência de toxinas, antígenos e enzimas digestivas ao epitélio, além de possuir propriedades bactericidas que reduzem a população bacteriana sendo, portanto, considerado importante componente do sistema de defesa intestinal [18,19].

Componentes do muco, as mucinas neutras e ácidas são produzidas pelas células epiteliais [1,17]. As mucinas ácidas, por sua vez, são constituídas de dois subtipos, segundo a predominância de radicais sulfato (sulfomucinas) ou de ácido siálico (sialomucinas) em sua molécula [1,17]. A proporção de mucinas neutras e ácidas, incluindo seus componentes, é constante no trato digestivo da mucosa cólica normal. Entretanto, suas quantidades podem estar alteradas em algumas enfermidades como colites bacterianas, retocolite ulcerativa intestinal inespecífica (RCUI), doença de Crohn, colite de exclusão (CE), pólipos adenomatosos e câncer colorretal. Estas doenças podem modificar a composição, secreção ou distribuição das mucinas no epitélio [1,8,17,18].

Uma das enfermidades que altera a expressão, o tipo e conteúdo das mucinas é a CE. A CE é uma doença inflamatória que acomete segmentos do intestino grosso desprovidos de trânsito intestinal [19]. A patogênese da doença está relacionada à deficiência de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), decorrente da exclusão do trânsito fecal [20-27]. Como consequência da ausência de AGCC, em particular o ácido butírico, ocorre a diminuição da transcrição da fração proteica das mucinas, acarretando um declínio na produção das mesmas [19]. Pesquisas em modelos experimentais de CE mostraram um aumento da produção de radicais livres de oxigênio (RLO) pelas células do segmento colônico excluído. Observou-se também que a produção de RLO é diretamente proporcional ao tempo de ausência de trânsito intestinal [1,7,12]. Os resultados desses estudos também mostraram que os RLO promovem dano tecidual com o objetivo de substituir as células mortas, estimulando a proliferação de células da zona germinativa das glândulas mucosas. Estas células, por sua vez, são imaturas e expressam um subtipo específico de mucina ácida [7,12].

Uma sequência de estudos realizados no Laboratório de Investigação Médica (LIM) da Faculdade São Francisco mostrou que as células desprovidas de trânsito intestinal sofrem diferentes reações bioquímicas para produção de energia, promovendo a produção de RLO. Estes, quando não neutralizados, danificam os mecanismos de proteção mecânica da mucosa, inclusive com redução e modificação da produção de mucinas [8,12]. Simultaneamente, evidências de estudos mostrando aplicação de enemas de substâncias, naturais ou sintéticas, com efeito antioxidante mostraram melhora do padrão inflamatório [28,29]. A *Curcuma longa* (*Curcuma longa* L.) é uma planta herbácea, pertencente à ordem das *Zingiberales* e da família *Zingiberaceae* [30]. Diversas propriedades medicinais têm sido atribuídas ao extrato de *Curcuma longa*, inclusive efeito antioxidante por remover RLO formados durante a resposta inflamatória [31].

Considerando que a CE cursa com redução do conteúdo de mucinas nas glândulas epiteliais ocasionado pelo estresse oxidativo pela maior produção de RLO [7,12] e que a *Curcuma longa* possui efeitos antioxidantes destacados [31], torna-se interessante verificar em um modelo experimental de CE se aplicação diária de clisteres contendo curcumina preservaria o conteúdo de sulfomucinas e sialomucinas na mucosa cólica excluída de trânsito intestinal. Caso a curcumina

aumente a proteção conferida pela camada de muco que recobre o epitélio intestinal poderia se tornar uma estratégia terapêutica de baixo custo para o tratamento da CE.

2 OBJETIVOS

- Quantificar o conteúdo tecidual de sulfomucinas e sialomucinas na mucosa cólica de ratos desprovida de trânsito fecal submetida à intervenção com curcumina.
- Verificar se o conteúdo tecidual de sulfomucinas e sialomucinas no cólon excluso de trânsito intestinal submetido à intervenção com curcumina encontra-se relacionado a concentração utilizada.
- Verificar se o conteúdo tecidual de sulfomucinas e sialomucinas no cólon excluso de trânsito intestinal submetido à intervenção com curcumina encontra-se relacionado ao tempo de intervenção adotado.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 O epitélio colônico

A parede intestinal é composta das camadas mucosa, muscular da mucosa, muscular própria e serosa [32].

A mucosa é formada por uma simples camada de células justapostas, especializadas e firmemente aderidas umas as outras, separando o conteúdo intraluminal rico em antígenos, bactérias e toxinas do meio estéril [9,10]. A mucosa apresenta células caliciformes produtoras de muco com ação lubrificante e bactericida [11,12]. Estas células apresentam glândulas de Lieberkuhn, cuja porção proximal têm função de absorver água e íons e a porção distal possui células imaturas e células tronco intestinais, responsáveis pela substituição de células descamadas da superfície apical [32].

A camada muscular da mucosa é formada de fibras musculares e serve de sustentação para as células epiteliais [32].

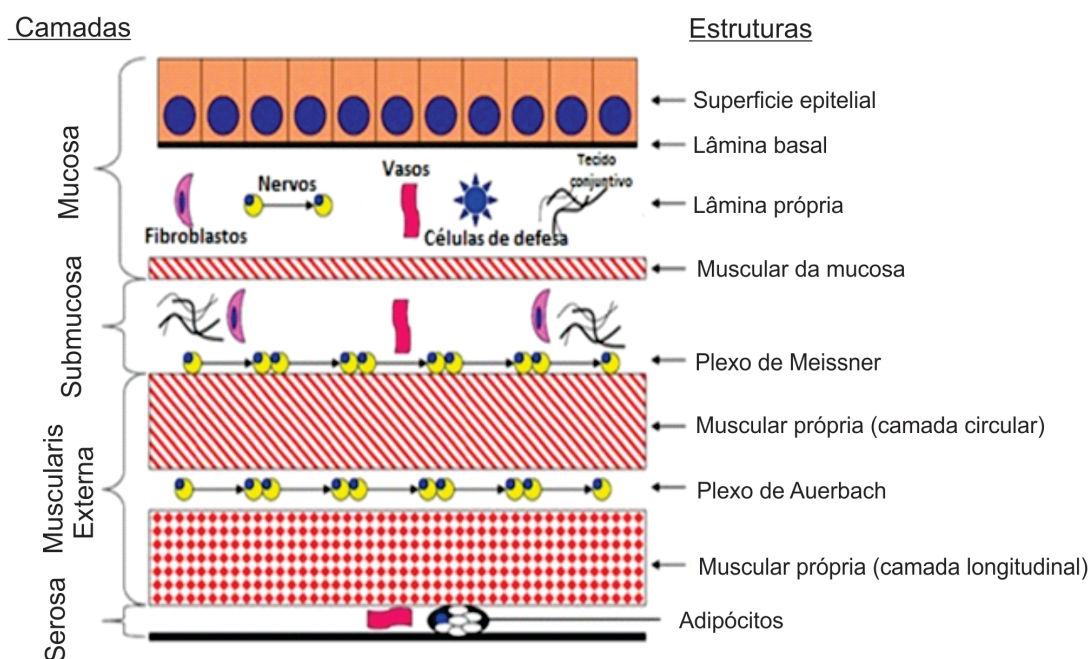
A camada submucosa, por sua vez, é constituída de espessa camada de tecido conjuntivo, e apresenta plexos de vasos sanguíneos, linfáticos e nervosos. O

plexo de Meissner é componente da submucosa e é responsável pela movimentação da mucosa durante a peristalse [32].

Na camada muscular própria fica o plexo nervoso de Auerbach, principal responsável pelo peristaltismo intestinal [32].

Finalmente, a serosa é a camada mais externa e representa o peritônio visceral do intestino [32]. A figura 1 mostra a composição da parede intestinal.

Figura 1: Camadas da parede intestinal.



Kadri, C.J., et al. 2015

3.2 Colite de exclusão

A primeira descrição de CE data de 1981 [19]. Na ocasião, os autores relataram o desenvolvimento de um processo inflamatório no intestino desprovido de trânsito intestinal.

Desde então a entidade vem sendo estudada e observou-se que a enfermidade tem alta prevalência. Estudos recentes mostram que a falta de AGCC leva à produção de RLO. Estes, quando produzidos em excesso, danificam a

barreira de muco na superfície do epitélio, facilitando a translocação bacteriana e induzindo uma resposta inflamatória de defesa [7].

Os AGCC são ácidos formados por dois, três ou quatro carbonos (acético, propiônico e butírico respectivamente). Uma vez formados são rapidamente absorvidos no jejuno, íleo, cólon e reto. São produzidos por meio da fermentação de carboidratos e proteínas ingeridos pela dieta, como fibras, probióticos e prebióticos. Esta fermentação é realizada por bactérias anaeróbicas, principalmente bifidobactérias e lactobacillus, presentes no intestino grosso [11,17].

Intervenções cirúrgicas que promovem a derivação intestinal podem ocorrer na neoplasia obstrutiva de cólon, na doença diverticular complicada, na doença inflamatória intestinal (DII), no trauma, nas estomias derivativas de proteção contra a gravidade de fístulas de anastomoses realizadas a jusante, nos segmentos intestinais utilizados para reconstituição ou derivação das vias urinárias e na confecção de neovagina [1].

No Brasil, a reconstrução do trânsito intestinal em pacientes previamente derivados ocorre em somente 57% dos casos e o tempo médio de fechamento é de oito meses, tempo mais do que suficiente para o desenvolvimento de CE [33]. A CE é diagnosticada em 91% dos pacientes submetidos a exame endoscópico sistemático do intestino excluso de trânsito após três meses da confecção do estoma, sendo 44% de forma moderada e 4% de forma grave [33].

O quadro clínico é intimamente relacionado à extensão da CE. O paciente pode apresentar exteriorização de sangue e muco, além de dor abdominal e tenesmo [34]. Endoscopicamente, a mucosa apresenta hiperemia, congestão, edema, apagamento dos vasos sanguíneos e nos casos graves, úlceras aftóides semelhantes a RCUI [24]. Na avaliação anatomopatológica, encontra-se infiltrado inflamatório crônico, hiperplasia linfoide nodular, abscesso de criptas e índice de apoptose maior quando comparado a áreas de mucosa provida de trânsito intestinal [35,36].

3.3 Estresse oxidativo

O RLO é formado normalmente a partir do metabolismo energético de células vivas, entretanto a célula possui mecanismos antioxidantes naturais, enzimáticos e não enzimáticos, que são responsáveis pelo equilíbrio de produção e eliminação dos agentes oxidantes [37,38]. O estresse oxidativo, por sua vez, ocorre

em situações de diminuição da capacidade antioxidante do organismo, em casos de superprodução de RLO e por superpopulação de bactérias produtoras de nitrato [8]. Os RLO, em excesso, difundem-se pelo interior da célula ocasionando lesão nas diferentes linhas de defesa da barreira e permitindo a migração de antígenos e bactérias para o interior da submucosa. Na tentativa de combater os agressores ocorre migração de leucócitos e liberação de enzimas citolíticas, agravando o processo inflamatório [39-41].

3.4 Sulfomucina e sialomucina

O muco secretado pelas células caliciformes é formado por compostos glicoproteicos, principalmente representado pelas mucinas. A molécula de mucina têm alto peso molecular, o que a permite aderir ao epitélio cólico e exercer função de barreira [19].

As mucinas são divididas em dois grandes grupos: Mucinas neutras, ricas em glicogênio; e ácidas, ricas em ácido siálico e radicais sulfatados [7]. Apesar das diferenças bioquímicas, aparentemente elas possuem a mesma função [42].

As mucinas ácidas dividem-se em dois subgrupos representados pelas sulfomucinas e sialomucinas segundo a predominância de radicais de sulfatados ou ácido siálico respectivamente [7].

Estudos mostraram que tanto mucinas neutras quanto ácidas estão presentes no cólon, entretanto existe um predomínio de mucinas ácidas, em especial de sulfomucinas [43]. As sialomucinas encontram-se predominantemente no domínio basal da célula, junto ao núcleo, enquanto as sulfomucinas no domínio apical, próximo a membrana celular [44].

A intensidade de expressão, o tipo e o padrão de distribuição modificam-se nas diversas doenças que afetam o cólon [43,45,46]. Nas colites inespecíficas, a produção de mucinas ácidas encontra-se diminuída ou ausente [34]. Na RCUI e na doença de Cronh, por sua vez, é observado predomínio de sialomucinas, enquanto na CE as sulfomucinas ocupam praticamente toda a extensão da cripta [1,7,11,43].

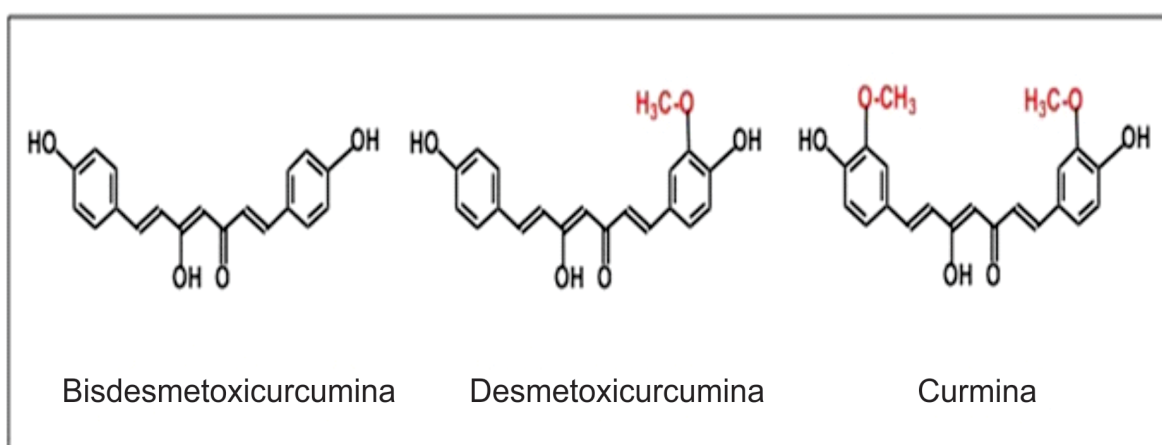
3.5 *Curcuma longa* (Curcumina)

A *Curcuma longa* é uma planta herbácea, pertencente à ordem das *Zingiberales* e da família *Zingiberaceae* [13,30]. A planta foi introduzida no Brasil nos anos 80, porém é originária no sudoeste da Ásia [47]. A porção de interesse

comercial é o rizoma da planta, devido a suas propriedades farmacológicas [13,47]. A *Curcuma longa* também é conhecida popularmente como açafrão-da-índia, açafrão, tumérico, mangarataia, batatinha amarela, gengibre dourado e gengibre amarelo.

Os principais compostos obtidos do extrato do rizoma da *Curcuma longa* são conhecidos como curcumina, desmetoxicurcumina e bisdesmetoxicurcumina [13,48] (Figura 2).

Figura 2: Compostos obtidos do extrato de *Curcuma longa*.



http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-70542008000300026

Diversas propriedades medicinais foram atribuídas à *Curcuma longa*. Encontra-se descrito na literatura o uso medicinal da curcumina como analgésico, antisséptico, antiespasmódico, vermífugo, no tratamento de dispepsia, na uveíte anterior crônica, na erradicação do *Helicobacter pylori*, em experimentos científicos na artrite, no mal de Alzheimer, nas osteoartrites, na diabetes e em câncer de fígado e colorretal [47-61].

Extensas pesquisas mostraram o efeito antioxidante da curcumina, o que torna interessante sua avaliação na CE [2,18,30].

4 MATERIAL E MÉTODO

4.1 Animais de experimentação

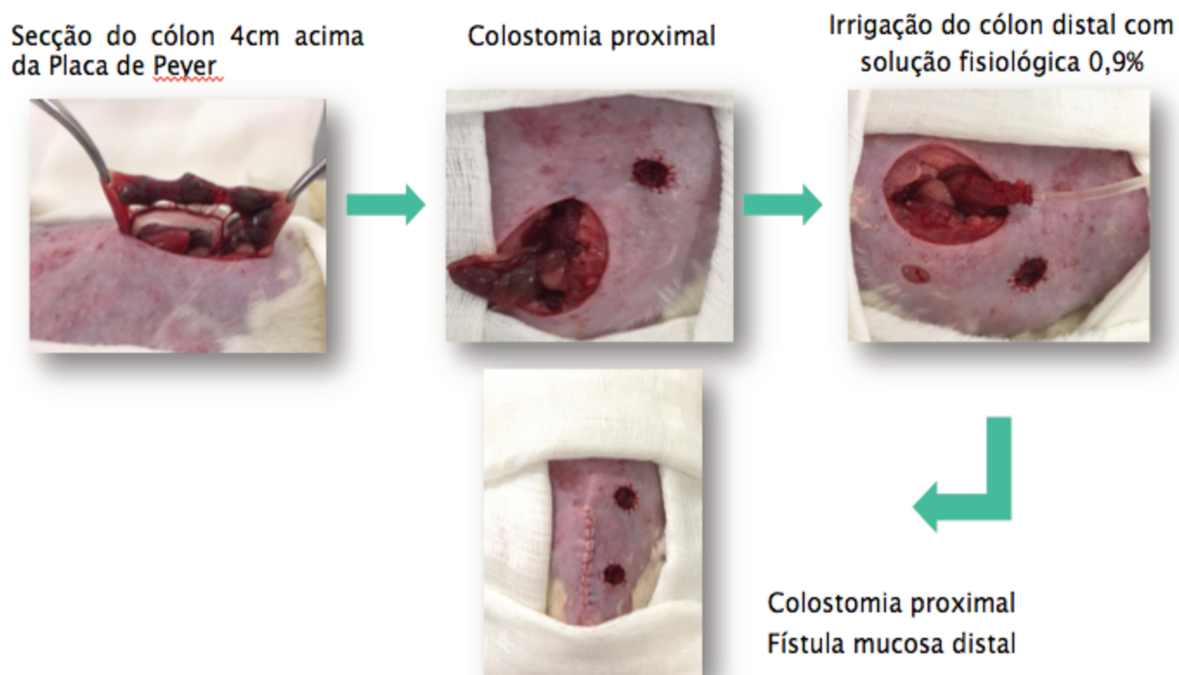
Foram utilizados 36 ratos Wistar machos, pesando entre 300 e 350 g, com idade aproximada de 12 meses, provenientes do Biotério Central da

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 fixados 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 (Figura 3).

Figura 3: Técnica cirúrgica.

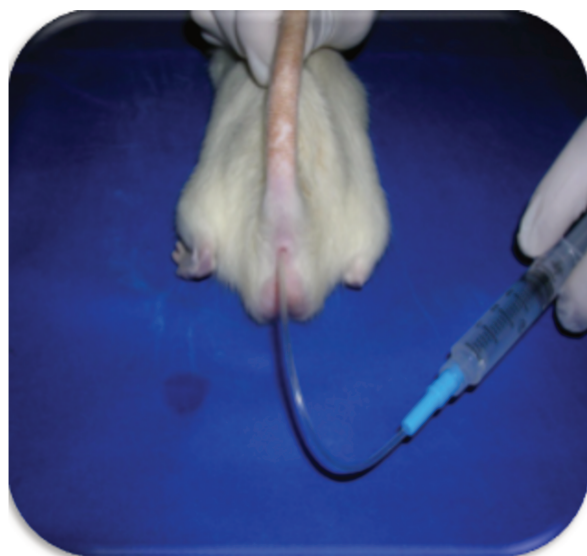


Cortesia Laboratório de Investigação Médica da Faculdade São Francisco

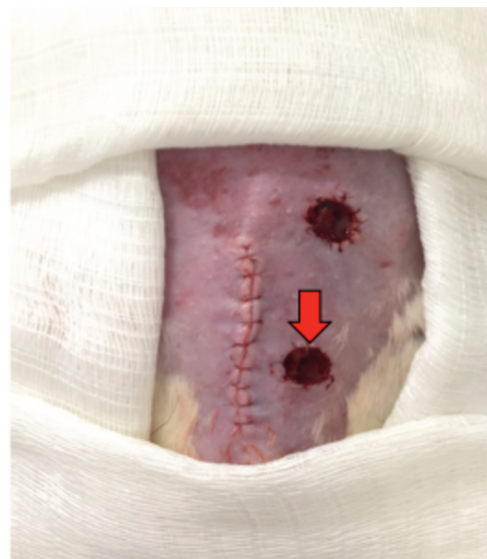
4.3 Grupos experimentais

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 um enema diário contendo extrato oleoso de *Curcuma longa* (Sigma Aldrich do Brasil LTDA., São Paulo, Brasil) em duas concentrações diferentes: 50 mg/kg/dia e 200 mg/kg/dia, respectivamente. Em cada um dos grupos, seis animais foram sacrificados após duas semanas e os outros seis após quatro semanas de intervenção (Figuras 4 e 5).

Figura 4: Intervenção



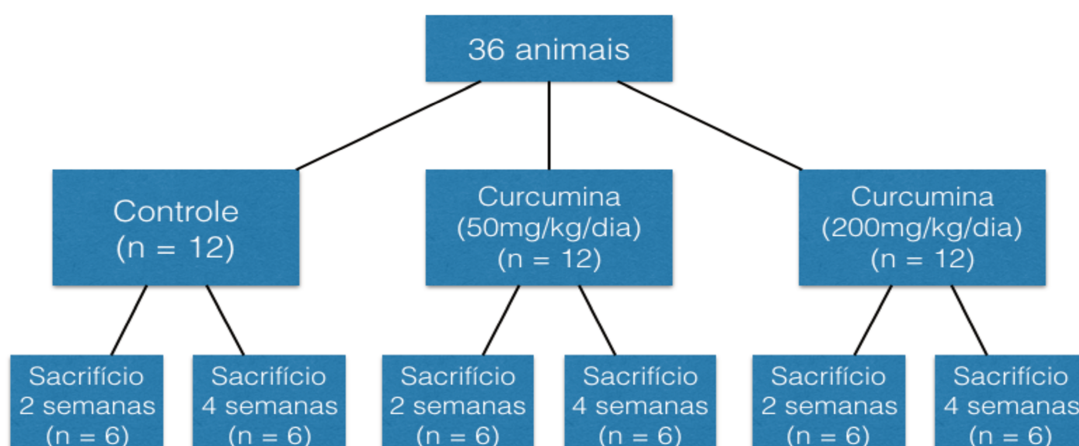
Enema de solução de intervenção:
SF 0,9% x Curcumina



Fístula mucosa distal

Cortesia Laboratório de Investigação Médica da Faculdade São Francisco

Figura 5: Subdivisão dos grupos experimentais.

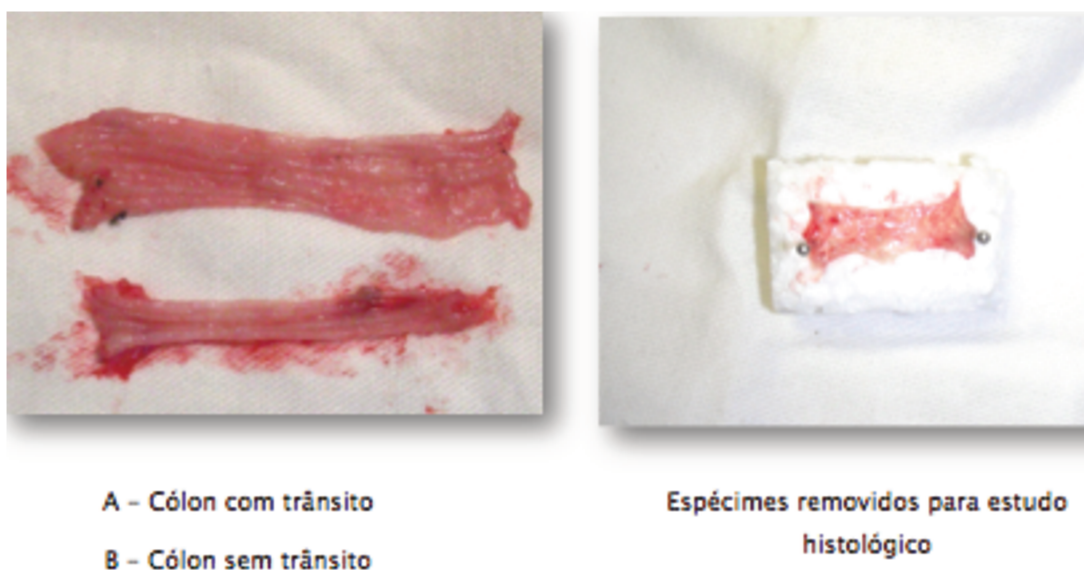


4.4 Coleta das amostras

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 (Figura 6).

Figura 6: Coleta das amostras

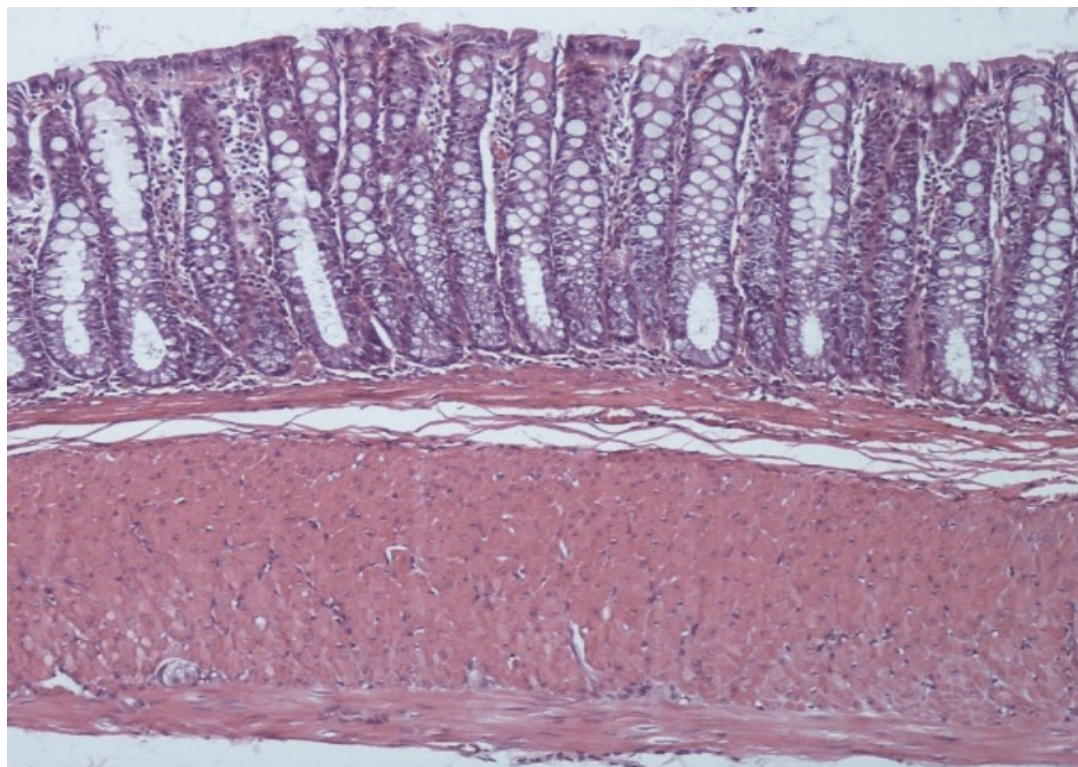


Cortesia Laboratório de Investigação Médica da Faculdade São Francisco

4.5 Análise histológica

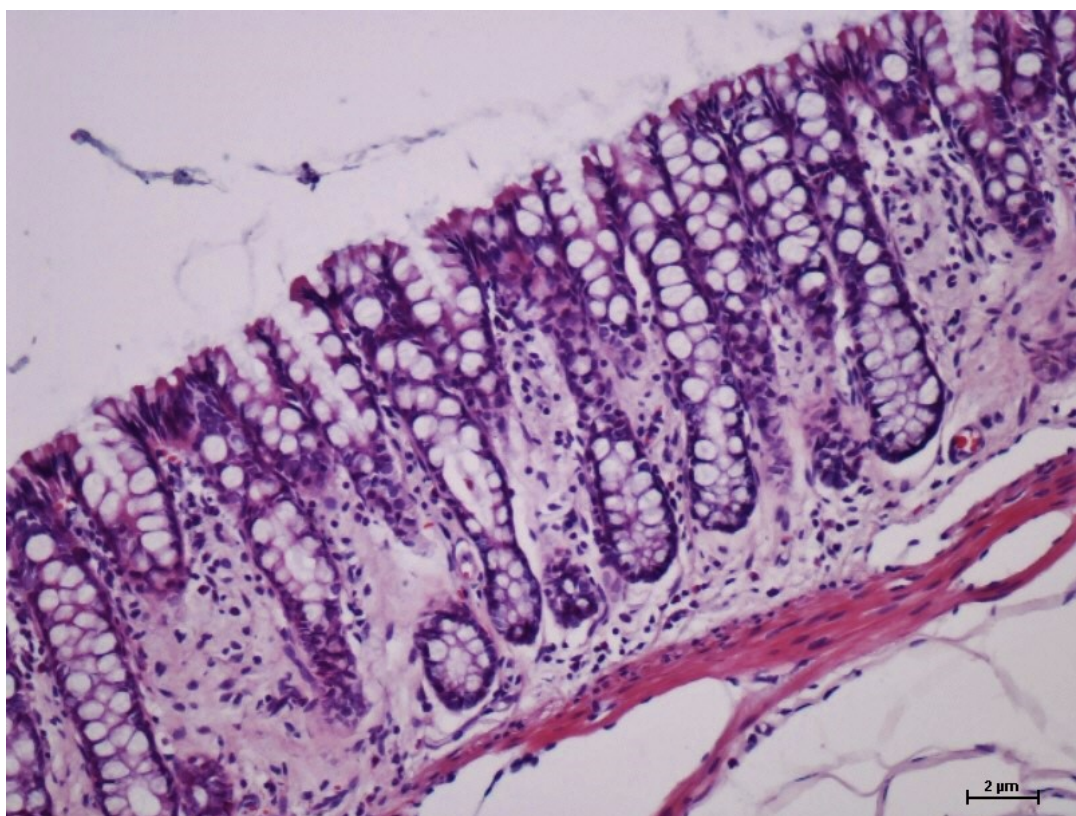
Os fragmentos removidos foram submersos em solução tamponada de formaldeído a 10% (Sigma, St. Louis, MO, USA) por 24 horas, desidratados por exposição a concentrações crescentes de álcool e emblocados em parafina. De cada bloco dois cortes histológicos com 5 µm de espessura foram realizados para montagem 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. 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 essa técnica, as sulfomucinas coram-se em marrom enquanto as sialomucinas em azul (Figuras 7 e 8).

Figura 7: Lâmina mostrando histologia do cólon normal.



Cortesia Professor Carlos Augusto Real Martinez

Figura 8: Lâmina mostrando histologia do cólon excuso.



Cortesia Professor Carlos Augusto Real Martinez

4.6 Graduação inflamatória

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), presença de abscessos em criptas cólicas, intensidade do infiltrado inflamatório e presença de fibrose. A cada uma dessas variáveis foi atribuindo um valor expresso em cruces: 0/+ = ausente; ++/+++ = leve; ++++/+++++ = moderada e > 6+ grave. O valor da soma do resultado encontrado para variável, após leitura de três campos, formava o escore inflamatório para a presença de colite (0->6) [8] (Tabela 1). A leitura das lâminas foi realizada com magnificação final de 200x e sempre feita em local onde existissem pelo menos três glândulas cólicas íntegras. Adotou-se como resultado final para o escore inflamatório, em cada animal, a média obtida após a leitura de três campos distintos.

Tabela 1: Graduação Inflamatória

Grau de inflamação	Escore	Características histopatológicas
Ausente	0-1	Ausência de perda epitelial Sem abscessos de criptas Intensidade do infiltrado inflamatório Ausência de fibrose
Leve	2-3	Pequena perda epitelial Sem abscessos de criptas Infiltrado inflamatório em <50% das criptas Ausência de fibrose
Moderado	4-5	Perda epitelial pequena Abscessos <50% das criptas Infiltração neutrofílica em $\geq 51\%$ das criptas Presença de fibrose focal
Intenso	>6	Grande perda epitelial Abscessos $\geq 51\%$ das criptas Infiltração neutrofílica em $\geq 51\%$ das criptas Fibrose difusa

4.7 Quantificação do conteúdo de sulfomucinas e sialomucinas

O conteúdo tecidual de sulfomucinas e sialomucinas foi mensurado por análise de imagem assistida por computador (morfometria computadorizada), quantificando-se o conteúdo de ambos os subtipos, em três glândulas cólicas integras e contíguas analisando-se sempre para cada lâmina três campos distintos. O conteúdo de ambos os subtipos de mucinas foi quantificado nas mesmas glândulas selecionadas.

Após a identificação do campo histológico que iria ser analisado a imagem selecionada, após adequadamente focada, foi capturada por vídeo-câmera (DS-Fi-50; Nikon Inc., Osaka, Japan), acoplada ao microscópio óptico (Eclipse DS-50, Nikon Inc., Osaka, Japan), e analisada pelo programa NIS-Elements (NIS-Elements, versão 3.2 para Windows, Nikon Inc., Osaka, Japan), instalado em um computador com grande capacidade de processamento de imagens gráficas [IOS-5

dual-core, oito GB de Memória RAM (Random Access Memory)], com placa de vídeo-captura (Asus A7N8X-X) e armazenadas em um disco rígido externo com capacidade de armazenamento de 1 Terabyte).

A quantificação das glicoproteínas foi sempre realizada após a calibração do programa para o aumento selecionado (200x). A calibração foi sempre refeita após a leitura de cada lâmina histológica. Para a quantificação do conteúdo da proteína encontrada em cada campo escolhido, foi utilizado o filtro RGB adotando-se histograma de onda que continha todo o espectro de variação para as cores marrom (cor que identificava a imunexpressão de sulfomucina) ou azul (cor que identificava a imunexpressão de sialomucina). A mensuração de cada uma das proteínas foi feita separadamente. Em cada lâmina, depois de identificado o campo selecionado, inicialmente mensurou-se o conteúdo de sulfomucinas. Depois de captado no campo histológico todo o conteúdo que expressava a coloração marrom, era possível transformar todo o campo de visão numa imagem binária onde a coloração marrom, que identificava a imunexpressão da sulfomucina era transformada na cor branca e todo o restante do campo de visão capturado, onde não havia a presença da coloração marrom, em preto. Com isso era possível verificar quanto havia de coloração branca no campo focal preenchido pela cor preta. No local realizava-se a identificação da coloração azul, que identificava a presença de sialomucinas repetindo-se a metodologia de quantificação descrita para a medida da sulfomucina. Em cada lâmina, como referido anteriormente, esse processo foi repetido em três campos histológicos distintos. Os valores encontrados para o conteúdo tecidual de cada uma das duas glicoproteínas estudadas nos três campos analisados foram somados e o valor final para cada lâmina sempre expresso em porcentagem do conteúdo da proteína por campo analisado. O valor final adotado para os subgrupos controle e experimento (irrigados com SF ou extrato oleoso de curcumina nas concentrações de 50 mg/kg/dia e 200 mg/kg/dia) foi sempre expresso com o valor médio com o respectivo erro padrão. Todas as imagens selecionadas foram arquivadas para posterior documentação fotográfica.

4.8 Aspectos éticos

Este estudo obedeceu às recomendações da lei Federal No. 11.794 e às orientações do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA)[62]. O

Projeto de Pesquisa recebeu a aprovação do Comitê de Ética no uso de Animais em pesquisa da Universidade São Francisco (Projeto No 22.11/07). A cópia do parecer encontra-se no ANEXO.

4.9 Análise estatística

O número de animais utilizados foi definido por meio do teste de Amostra. O conteúdo tecidual de sulfomucinas e sialomucinas foi descrito segundo o valor médio encontrado com o respectivo desvio padrão. A comparação entre os grupos foi avaliada pelo teste de Mann-Whitney e a variância pelo teste ANOVA. Em ambos os testes adotou-se nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$), utilizando-se o programa Biostat® versão 5.0.

5 RESULTADOS

Os 36 animais foram distribuídos aleatoriamente em três grupos experimentais com 12 ratos cada. A Figura 5 mostra o algoritmo de formação dos grupos experimentais.

O Gráfico 1 mostra a graduação inflamatória utilizando o escore inflamatório do Mount Sinai Hospital modificada. Observa-se que o índice inflamatório tecidual diminui após irrigação com curcumina nas doses de 50mg/kg/dia e de 200 mg/kg/dia após duas e quatro semanas.

O Gráfico 2 mostra o conteúdo tecidual de sialomucinas em segmento cólico desprovido de trânsito intestinal, mensurados no controle e após irrigação com curcumina nas doses de 50mg/kg/dia e de 200 mg/kg/dia após duas e quatro semanas. Observa-se que o conteúdo tecidual de sialomucinas diminui nos controles após quatro semanas de irrigação com soro fisiológico 0,9%. Verifica-se também que esta mucina ácida está aumentada após intervenção com curcumina, e que este aumento está relacionado a dose e tempo de terapêutica.

O Gráfico 3 mostra o conteúdo tecidual de sulfomucinas em segmento cólico desprovido de trânsito intestinal, mensurados no controle e após irrigação com curcumina nas doses de 50mg/kg/dia e de 200 mg/kg/dia após duas e quatro semanas. Observa-se que o conteúdo tecidual de sulfomucina aumenta nos controles após quatro semanas de irrigação com soro fisiológico 0,9%. Verifica-se

também que esta mucina ácida está aumentada após intervenção com curcumina, e que este aumento está relacionado a dose e tempo de terapêutica.

A Tabela 2 compara estatisticamente a quantidade de sulfomucina e sialomucina expressa no tecido de segmento cólico desprovido de trânsito intestinal, após intervenção específica com soro fisiológico 0,9%, curcumina 50 mg/kg/dia e curcumina 200mg/kg/dia, em relação ao tempo de exposição à intervenção. Observa-se que a quantidade de ambas as mucinas ácidas é maior após 4 semanas em todas as formas de terapêutica utilizadas, demonstradas com significância estatística.

Gráfico 1: Graduação inflamatória seguindo escore de Mount Sinai Hospital modificada.

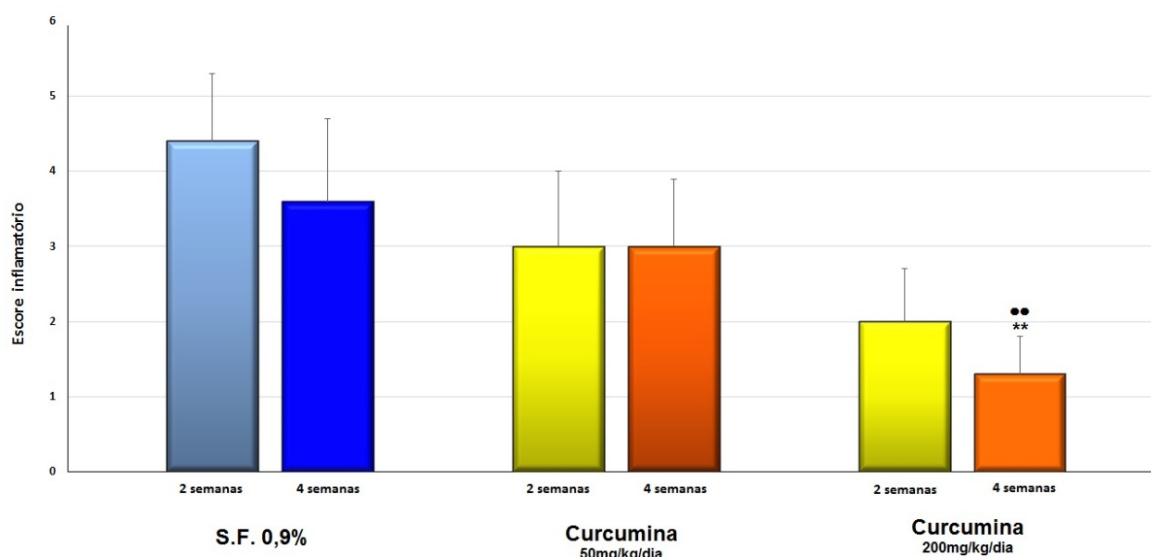


Gráfico 2: Conteúdo tecidual de sialomucina após intervenção com soro fisiológico 0,9%, curcumina 50mg/kg/dia e curcumina 200mg/kg/dia após duas e quatro semanas.

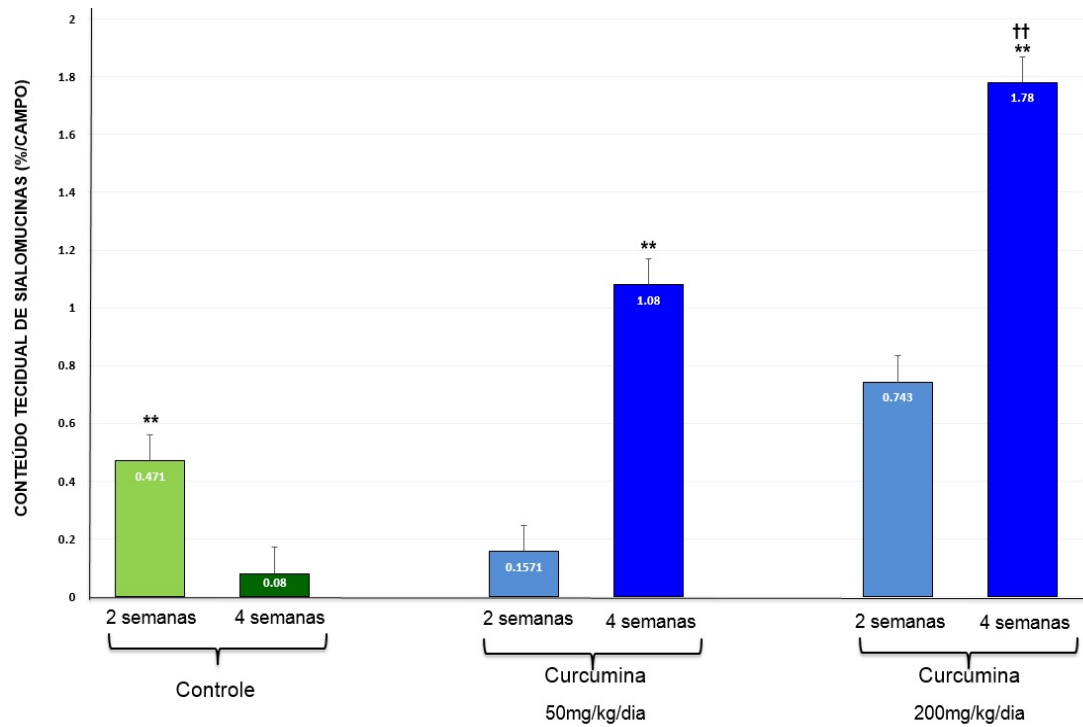
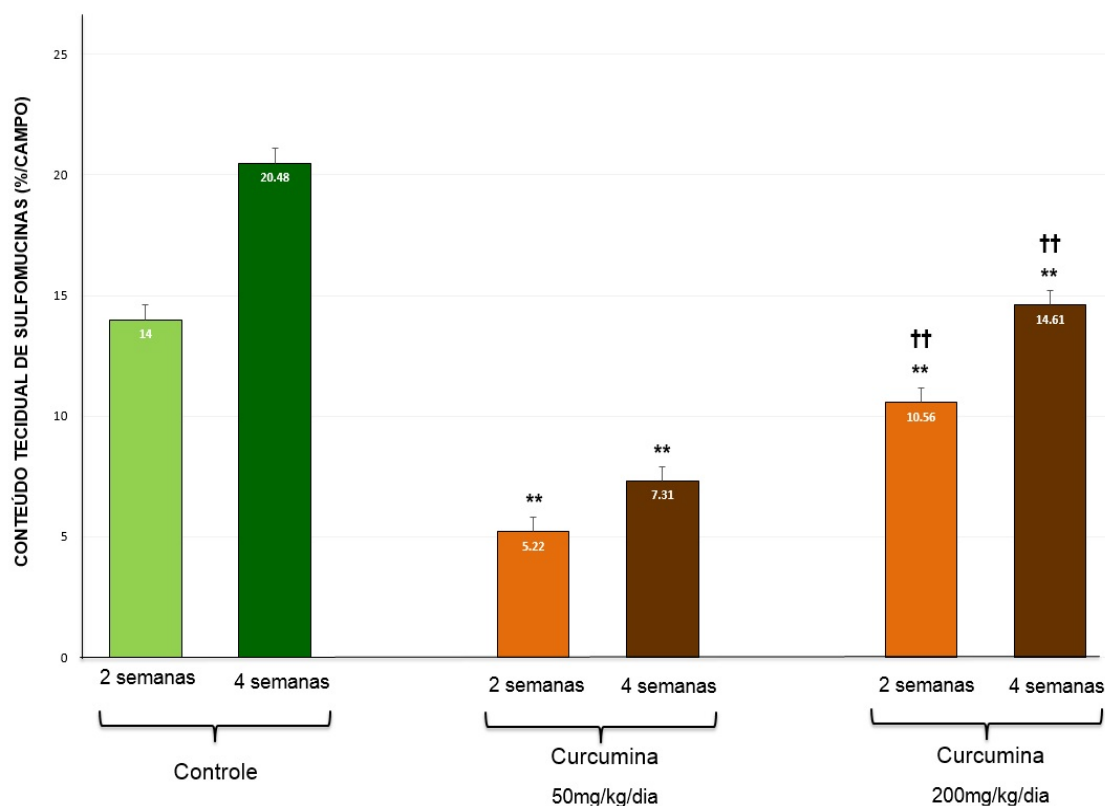


Gráfico 3: Conteúdo tecidual de sulfomucina após intervenção com soro fisiológico 0,9%, curcumina 50mg/kg/dia e curcumina 200mg/kg/dia após duas e quatro semanas.



Teste de ANOVA. Sulfomucinas: Duas semanas: S.F. 0,9% > Curcumina 50mg/kg/dia; S.F.0,9% > Curcumina 20mg/kg/dia; Curcumina 200mg/kg/dia > Curcumina 50mg/kg/dia. Quatro semanas: S.F.0,9% > Curcumina 50mg/kg/dia; S.F. 0,9% > Curcumina 200mg/kg/dia; Curcumina 200mg/kg/dia > Curcumina 50mg/kg/dia. Sialomucinas: Duas semanas: S.F.0,9% > Curcumina 50mg/kg/dia; S.F.0,9% x Curcumina 200mg/kg/dia (NS); Curcumina 200mg/kg/dia > Curcumina 50mg/kg/dia. Quatro semanas: S.F.0,9% < Curcumina 50mg/kg/dia; S.F.0,9% < Curcumina 200mg/kg/dia; Curcumina 50mg/kg/dia < Curcuma longa 200mg/kg/dia.

Tabela 2: Influência do tempo de intervenção na expressão tecidual de sulfomucinas e sialomucinas nos animais submetidos a intervenção com S.F 0,9% e extrato oleoso de curcumina nas concentrações de 50mg/kg/dia e 200mg/kg/dia.

Substância de intervenção e concentração	Média ± Erro padrão		p valor
	2 semanas	4 semanas	
Sulfomucinas			
Controle	14,0±0,32	20,48±0,24	<0,0001
Curcumina (50mg/kg/dia)	5,22±0,39	7,31±0,61	<0,004
Cúrcuma longa (200mg/kg/dia)	10,56±0,36	14,61±0,49	<0,0001
Sialomucinas			
Controle	0,471±0,06	0.080±0,01	<0,0001
Cúrcuma longa (50mg/kg/dia)	0.157±0,03	1,08±0,12	<0,0001
Cúrcuma longa (50mg/kg/dia)	0,743±0,09	1,781±0,09	<0,0001

Teste de Mann-Whitney. 4 semanas x 2 semanas.

A Tabela 3 compara estatisticamente a quantidade de sulfomucina e sialomucina expressa no tecido de segmento cólico desprovido de trânsito intestinal, após intervenção específica com soro fisiológico 0,9%, curcumina 50 mg/kg/dia e curcumina 200mg/kg/dia, considerando substância de intervenção e dose utilizada. Observa-se que a quantidade de ambas as mucinas ácidas é maior após intervenção com curcumina 200mg/kg/dia, demonstradas com significância estatística.

Na Figura 9, o segmento desprovido de trânsito fecal submetido a intervenção com soro fisiológico 0,9% por quatro semanas possui irregularidade da mucosa e baixa concentração tecidual de mucinas ácidas, em especial sialomucinas. Por sua vez, pode-se notar pelas Figuras 10 e 11 que a arquitetura da mucosa está preservada e há presença abundante de mucinas ácidas, em especial na mucosa cólica do segmento desprovido de trânsito fecal submetido à intervenção com curcumina 200 mg/kg/dia por quatro semanas.

Tabela 3: Influencia da concentração utilizada na expressão tecidual de sulfomucinas e sialomucinas nos animais submetidos a intervenção com SF 0,9% e extrato de Curcumina nas concentrações de 50mg/kg/dia e 200mg/kg/dia apos 2 ou 4 semanas de intervenção.

Substância de intervenção e concentração	Média ± Erro padrão			p valor
	SF 0,9%	Curcumina (50mg/kg/dia)	Cúrcuma (200mg/kg/dia)	
Sulfomucinas				
2 semanas	14,0±0,32	5,22±0,39	10,56±0,36	<0,00001
4 semanas	20,48±0,24	7,31±0,61	14,61±0,49	<0,00001
Sialomucinas				
2 semanas	0,471±0,06	0.157±0,03	0,743±0,09	<0,0004
4 semanas	0.080±0,01	1,08±0,12	1,78±0,09	<0,0001

Teste de ANOVA. Sulfomucinas: Duas semanas: S.F. 0,9% > Curcumina 50mg/kg/dia; S.F.0,9% > Curcumina 20mg/kg/dia; Curcumina 200mg/kg/dia > Curcumina 50mg/kg/dia. Quatro semanas: S.F.0,9% > Curcumina 50mg/kg/dia; S.F. 0,9% > Curcumina 200mg/kg/dia; Curcumina 200mg/kg/dia > Curcumina 50mg/kg/dia. Sialomucinas: Duas semanas: S.F.0,9% > Curcumina 50mg/kg/dia; S.F.0,9% x Curcumina 200mg/kg/dia (NS); Curcumina 200mg/kg/dia > Curcumina 50mg/kg/dia. Quatro semanas: S.F.0,9% < Curcumina 50mg/kg/dia; S.F.0,9% < Curcumina 200mg/kg/dia; Curcumina 50mg/kg/dia < Cúrcuma longa 200mg/kg/dia.

Figura 9: A mucosa cólica em segmento desprovido de trânsito fecal submetida a intervenção com soro fisiológico 0,9% por quatro semanas. Nota-se a irregularidade da mucosa, bem como a baixa concentração de mucinas ácidas, em especial de sialomucinas.

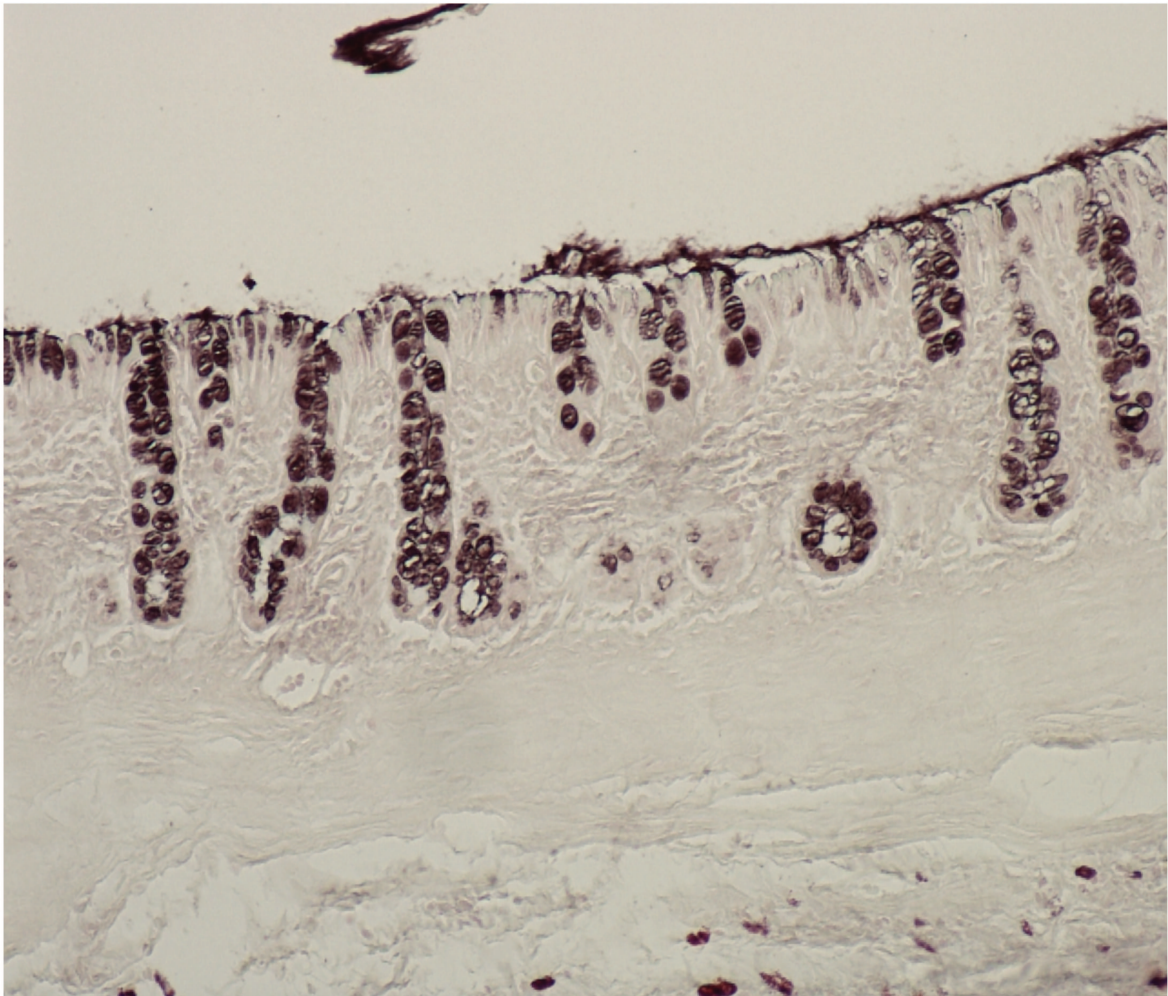


Figura 10: A mucosa cólica em segmento desprovido de trânsito fecal submetida à intervenção com curcumina 50 mg/kg/dia por quatro semanas. Nota-se a presença de mucinas ácidas em quantidade maior do que no controle.

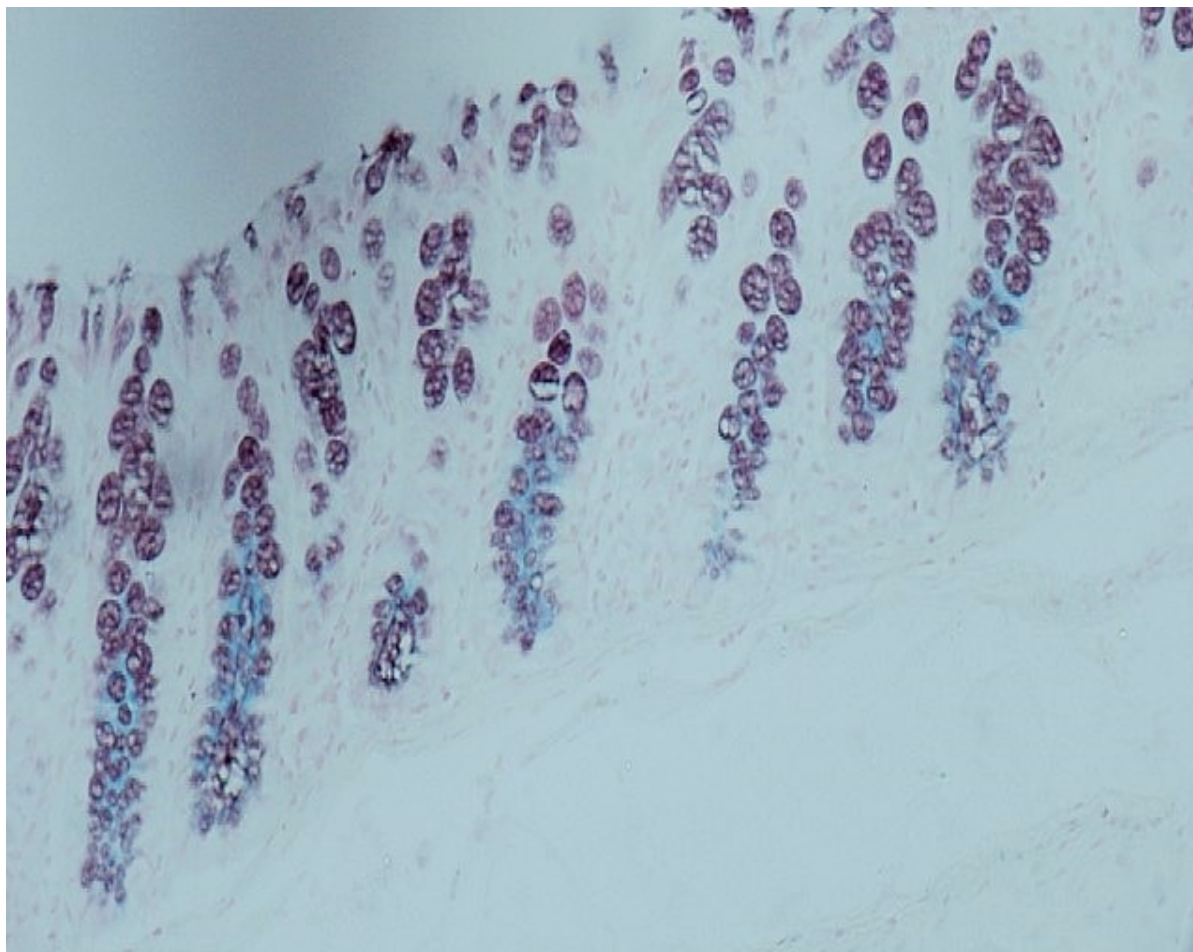
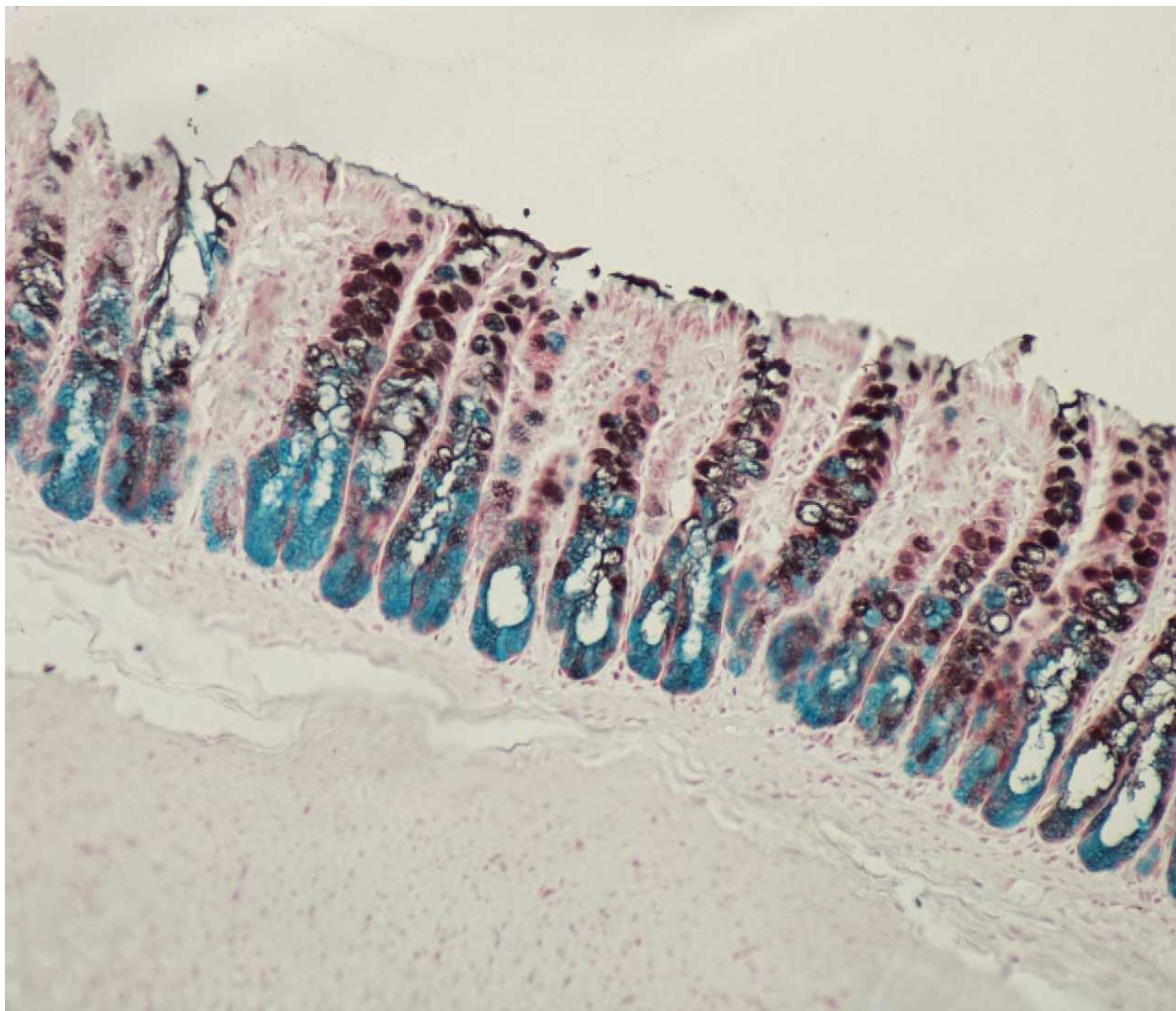


Figura 11: A mucosa cólica em segmento desprovido de trânsito fecal submetida à intervenção com curcumina 200 mg/kg/dia por quatro semanas. Nota-se a arquitetura preservada da mucosa e a presença abundante de mucinas ácidas.



6 DISCUSSÃO

Este estudo objetivou quantificar o conteúdo tecidual de sulfomucinas e sialomucinas na mucosa cólica desprovida de trânsito fecal e verificar se a quantidade de mucinas ácidas se alterava após intervenção com curcumina.

A fisiopatologia da CE ainda é motivo de investigação, entretanto acredita-se que seja considerada uma síndrome de deficiência nutricional decorrente da interrupção do fornecimento regular de AGCC a mucosa cólica exclusiva de trânsito intestinal [63]. Uma série de estudos mostrou que a mucosa cólica

desprovida do suprimento de AGCC desenvolvem CE, enquanto segmentos intestinais com trânsito restabelecido ou irrigados com soluções nutricionais ricas em AGCC apresentam melhora do processo inflamatório [64].

Os mecanismos moleculares pelos quais a deficiência de AGCC ocasionava a CE começaram a ficar esclarecidos com os resultados de estudos experimentais mostrando que as células do epitélio cólico sem o fornecimento de AGCC modificam seu metabolismo oxidativo mitocondrial formando altos níveis de RLO [7]. Essas substâncias são tóxicas para as células da mucosa cólica danificando as diferentes linhas de defesa permitindo a migração de antígenos e bactérias da luz para as camadas estéreis da parede intestinal. A infiltração bacteriana do meio interno da parede intestinal deflagra o processo inflamatório que promove e perpetua a lesão tecidual [7,12,29,65,66].

Considerando que o principal agente responsável pelo surgimento da CE seja o aumento na produção de RLO, alguns autores passaram a utilizar substâncias com atividade antioxidante para o tratamento da CE. Em animais de experimentação várias dessas substâncias mostraram-se eficazes reduzindo a produção de RLO, melhorando o dano oxidativo tecidual e reduzindo o processo inflamatório à mucosa cólica [29,66,67].

A curcumina é um dos princípios ativos encontrados no rizoma da *Curcuma longa* [47]. A esta substância são atribuídas diversas ações, dentre elas efeito anti-inflamatório, antimicrobiano, antiarteriosclerose, hepatoprotetor, anticoagulante, antitrombótico, hipoglicemiante e anticarcinogênico [56,57,68-77]. Além disso, a curcumina é capaz de sequestrar uma variedade de RLO, o que lhe confere um efeito antioxidante [78-81]. Diante de todas essas propriedades, é válido considerar a utilização da curcumina como potencial estratégia terapêutica para CE.

Estudos com curcumina na RCUI foram realizados e demonstraram benefícios tanto em ratos como em seres humanos. Sugimoto et al, em 2002, utilizou curcumina misturada à ração de ratos induzidos a colite com ácido trinitrobenzenosulfônico, observando melhora histológica [82]. Em seres humanos, Holt, Katz e Kirshoff, em 2005, administraram curcumina a cinco pacientes com doença de Crohn e RCUI, observando melhora dos sintomas clínicos. Hanai et al, em 2006, mostraram por estudo randomizado em indivíduos com RCUI, que pacientes com administração conjunta de curcumina e sulfassalazina mantinham

maior resposta clínica sustentada do que aqueles pacientes com administração isolada do salicilato. Kumar et al, em 2012, promoveram a primeira revisão sistemática da literatura que mostrou eficácia do emprego da curcumina na manutenção clínica sustentada em pacientes com RCUI [83-86]. Considerando a resposta eficaz da RCUI à curcumina, é válido considerar que esta também seja efetiva na CE, uma vez que as características clínicas, endoscópicas e histopatológicas das duas doenças se assemelham [7,39].

Merece destaque o fato de que a maioria dos estudos com curcumina não demonstrou toxicidade, além de efeitos colaterais desprezíveis para o uso em seres humanos [87].

Também deve ser considerado o fato de a curcumina ser insolúvel em água, o que dificulta a absorção pelo trato gastrointestinal e gera a necessidade de administração de altas doses da curcumina para atingir nível sérico. Entretanto, a medicação atinge concentrações elevadas na luz intestinal, dado que corrobora que a ação tópica talvez seja mais importante do que a sistêmica [47,88].

Existem diversas maneiras de avaliar lesão tecidual. Estudos mostraram uma redução do conteúdo tecidual de mucinas ácidas e neutras em segmentos intestinais desprovidos de trânsito, levando a acreditar que o estresse oxidativo interfere com a produção dessas proteínas [1,7]. Nonose et al, em 2009, demonstraram que a derivação do trânsito fecal diminui a expressão de mucinas ácidas nos segmentos desprovidos de trânsito intestinal e que essa alteração na expressão é tempo dependente. Relataram também que as quantidades de sulfomucina e sialomucinas geralmente são constantes na superfície do cólon normal. No entanto, a inversão de suas proporções frequentemente é considerado uma alteração patológica [12].

Considerando as similaridades clínicas e histopatológicas entre CE e RCUI, é concebível inferir que possa haver evolução do processo inflamatório crônico para displasia e neoplasia na CE, assim como ocorre na DII. Da mesma maneira, é factível acreditar que a quantificação da expressão de sulfomucina e sialomucinas na mucosa cólica pode ser um possível avaliador da eficácia terapêutica de diferentes substâncias utilizadas, incluindo a curcumina, cuja ação antioxidante preveniria o desenvolvimento de displasia e posteriormente câncer colorretal [12]. Vale ressaltar, entretanto, que a apresentação inversa na expressão

de mucinas ácidas na DII e na CE, associado à incidência crescente de câncer colorretal entre indivíduos com RCUI sugere que outros fatores intraluminais possam estar envolvidos neste padrão distinto de expressão de sulfomucina e sialomucinas. É possível que os diferentes padrões de expressão tecidual de mucinas ácidas possam estar relacionados a uma menor possibilidade de transformação neoplásica [7,89].

Quando se considera que a curcumina possui efeito antioxidante e é um medicamento de baixa toxicidade e efeitos colaterais desprezíveis parece interessante estudar seu efeito na CE, avaliando seu efeito no padrão de expressão de mucinas ácidas no segmento colônico excluso.

Verificou-se que aplicação de enemas de curcumina nas concentrações de 50 mg/kg/dia e 200 mg/kg/dia aumentou consideravelmente o conteúdo total de mucinas ácidas do cólon desprovido de trânsito fecal quando comparado ao grupo de animais tratados com soro fisiológico a 0,9%, fato que corrobora os achados de estudos que mostram os efeitos protetores e antioxidantes da curcumina [32].

Constatou-se que o conteúdo tecidual de sulfomucina aumenta nos controles após quatro semanas de irrigação com soro fisiológico 0,9%. Martinez et al, em 2010, demonstraram que com o aumento da duração da exclusão predominou a expressão de sulfomucinas nos tecidos. Em relação às sialomucinas, observou-se que após seis semanas de exclusão, o conteúdo tecidual inicialmente aumentou na parte mais profunda das criptas, mas posteriormente desapareceu. Os autores sugeriram que esse desaparecimento provavelmente estava relacionado a mudanças no turnover celular ao longo das criptas, que vieram a apresentar uma maior população de células imaturas que só eram capazes de produzir sulfomucinas [7,90].

Observou-se ainda que a quantidade tecidual de sialomucina e sulfomucina é diretamente proporcional a dose de curcumina administrada e mais extenso o período de tratamento.

Pesquisas anteriores que quantificaram a expressão tecidual de mucinas ácidas na colite de exclusão em ratos constataram uma significativa redução no conteúdo de sulfomucinas e sialomucinas, fato que valoriza ainda mais os achados desta pesquisa. Acredita-se que a redução das mucinas ácidas, principalmente as sialomucinas, esteja relacionada a ausência de AGCC [7,12,91].

Sendo assim, os resultados do presente estudo parecem confirmar informações de estudos anteriores que demonstraram o efeito protetor da curcumina sobre o epitélio colônico, bem como demonstra indiretamente o papel dos RLO na fisiopatologia da CE.

Em suma, este estudo evidenciou, através de seus resultados, que a aplicação tópica de enemas de curcumina em segmentos colônicos excluídos de trânsito fecal aumenta a quantidade tecidual de sulfomucinas e sialomucinas, dado que demonstra o efeito protetor desta terapêutica. Evidenciou ainda que a ação da curcumina é dependente de dose e tempo.

A CE é uma patologia de alta prevalência, que compromete a qualidade de vida de pacientes que já convivem com os estigmas de um estoma. Uma terapêutica de baixa toxicidade, baixo custo e alta efetividade, como a curcumina, pode aliviar o desconforto e sofrimento destes enfermos.

7 CONCLUSÃO

O conteúdo tecidual de sulfomucinas e sialomucinas na mucosa cólica desprovida de trânsito fecal submetida à intervenção com curcumina aumenta quando comparado a mucosa cólica com intervenção com soro fisiológico.

O conteúdo tecidual de sulfomucinas e sialomucinas no cólon excluído de trânsito intestinal submetido a intervenção com curcumina encontra-se relacionado a concentração utilizada, sendo maior na intervenção com curcumina 200mg/kg/dia.

O conteúdo tecidual de sulfomucinas e sialomucinas no cólon excluído de trânsito intestinal submetido a intervenção com curcumina encontra-se relacionado ao tempo de intervenção adotado, sendo maior na terapia realizada com quatro semanas.

REFERÊNCIAS

1. Keli E, et al. Diversion-related experimental colitis in rats. *Dis Colon Rectum*. 1997; 40: 222-8.
2. Pereira JA, et al. Evaluation of sucralfate enema in experimental diversion colitis. *J Coloproct*. 2013; 33(4): 182-90.
3. Chaim FDM. Avaliação do conteúdo tecidual de mucinas neutras e ácidas na mucosa cólica exclusiva de trânsito intestinal, submetida à aplicação de enemas com sucralfato: estudo experimental em ratos. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade São Francisco, Bragança Paulista, 2014.
4. Chaim FDM, et al. Evaluation of the application of enemas containing sucralfate in tissue content of neutral and acidis mucins in experimental model of diversion colitis. *Acta Cir Bras*. 2014; 29: 544-52.
5. Bonassa CEG. Avaliação do conteúdo tecidual de sulfomucinas e sialomucinas na mucosa cólica sem trânsito intestinal submetida à intervenção diária com sucralfato. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde). Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciências da Saúde, Universidade São Francisco, Bragança Paulista, 2015.
6. Bonassa CEG, et al. Tissue content of sulfomucins and sialomucins in the colonic mucosa, without fecal stream, undergoing daily intervention with sucralfate. *Acta Cir Bras*. 2015; 30(5): 328-38.
7. Martinez CAR, et al. Quantification by computerized morphometry of tissue levels of sulfomucins and sialomucins in diversion colitis in rats. *Acta Cir Bras*. 2010; 25: 231-40.
8. Gupta, RB, et al. Histologic inflammation is a risk factor for progression to colorectal neoplasia in ulcerative colitis: a cohort study. *Gastroenterology*. 2007; 133: 1099-1105.
9. Sousa MV, et al. Evaluation by computerized morphometry of histopathological alterations of the colon wall in segments with and without intestinal transit in rats. *Acta Cir Bras*. 2008; 23: 417-24.
10. Sousa MV. Avaliação das alterações histopatológicas da parede cólica na colite de exclusão: estudo experimental em ratos. Dissertação (Mestrado em

Ciências da Saúde) - Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciências da Saúde, Universidade São Francisco, Bragança Paulista, 2009.

11. Nonose R. Avaliação do padrão de expressão e do conteúdo de mucinas na mucosa cólica em modelo experimental de colite de exclusão: estudo em ratos. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade São Francisco, Bragança Paulista, 2009.

12. Nonose R, et al. Tissue quantification of neutral and acid mucins in the mucosa of the colon with and without fecal stream in rats. *Acta Cir Bras.* 2009; 24: 267-75.

13. Kadri CJ. E-cadherin expression in colonic mucosa with and without fecal stream. *J Invest Surg.* 2013; 26 (2): 72-9.

14. Fabris FM. Avaliação do conteúdo e padrão de expressão da proteína β -catenina na mucosa cólica com e sem trânsito intestinal: Estudo experimental em ratos. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde). Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciências da Saúde, Universidade São Francisco, Bragança Paulista, 2011.

15. Martinez CAR, et al. Oxidative stress and changes in the content and pattern of tissue expression of β -catenin protein in diversion colitis. *J. Coloproctol.* 2012; 32(4): 343-58.

16. Martinez CAR. Avaliação dos níveis de estresse oxidativo e modificações no conteúdo e padrão de expressão das proteínas E-caderina e β -catenina na mucosa cólica sem trânsito fecal: Estudo experimental em ratos. Tese (Livre- Docência em Cirurgia). Universidade de São Paulo, São Paulo. 2010.

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

18. Finnie IA. Colonic mucins synthesis is increased by sodium butyrate. *Gut.* 1995; 36: 93-9.

19. Gaudier E, et al. Butyrate enemas upregulate muc genes expression but decrease adherent mucus thickness in mice colon. *Physiol Res.* 2009; 58(1): 111-9.

20. Bosshardt RT, Abel, ME. Proctitis following fecal diversion. *Dis Colon Rectum.* 1984; 27(9): 605-7.

21. Agarwal VP, Schimmel EM. Diversion colitis: a nutritional deficiency syndrome? *Nutr Rev.* 1989; 47(9): 257-61.
22. Harig JM, et al. Treatment of diversion colitis with short-chain-fatty acid irrigation. *N Engl J Med.* 1989; 320(1): 23-8.
23. Ferguson CM, Siegel RJ. A prospective evaluation of diversion colitis. *Am Surg.* 1991; 57(1): 46-9.
24. Geraghty JM, Talbot IC. Diversion colitis: histological features in the colon and rectum after defunctioning colostomy. *Gut.* 1991; 32(9): 1020-3.
25. Haque S, West AB. Diversion colitis--20 years a-growing. *J Clin Gastroenterol.* 1992; 15(4): 281-3.
26. Mortensen PB, Clausen MR. Short-chain fatty acids in the human colon: relation to gastrointestinal health and disease. *Scand J Gastroenterol.* 1996; 216: 132-48.
27. Cook SI, Sellin JH. Review article: short-chain fatty acids in healthy and disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 1998; 12(6): 499-507.
28. Caltabiano C. Avaliação dos efeitos do ácido 5-aminosalicílico contra o dano oxidativo ao DNA na colite de exclusão. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde). Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciências da Saúde, Universidade São Francisco, Bragança Paulista. 2010.
29. Caltabiano C, et al. 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.* 2011; 56(4): 1037-46.
30. May A, et al. Desenvolvimento e produtividade da cúrcuma (*Curcuma longa* L.) em função de doses de nitrogênio e potássio. *Rev Bras Pl Med.* 2005; 7(3): 1-7.
31. Fu Y, et al., Curcumin protects the rat liver from CCl₄-caused injury and fibrogenesis by attenuating oxidative stress and suppressing inflammation. *Mol Pharmacol.* 2008; 73(2): 399-409.
32. Kadri CJ. Avaliação dos efeitos tópicos do extrato oleoso de *Curcuma longa* L. (curcumina) no conteúdo tecidual das proteínas claudina-3, ocludina, e-caderina e B-catenina e mieloperoxidase nas glândulas da mucosa cólica desprovida de trânsito intestinal. Dissertação (Doutorado em Ciências da Saúde) – Universidade São Francisco, Bragança Paulista, 2015.

33. Habr-Gama A, et al. Operação de Hartmann e suas consequências. *Rev bras Coloproctol.* 1997; 17(1): 5-10.
34. Lu ES, et al. A severe case of diversion colitis with large ulcerations. *Am J Gastroenterol.* 1995; 90(9): 1508-10.
35. Murray F, et al. Diversion colitis: pathologic findings in a resected sigmoid colon and rectum. *Gastroenterology.* 1987; 93(6): 1404-8.
36. Yeong ML, et al. Lymphoid follicular hyperplasia - a distinctive feature of diversion colitis. *Histopathology.* 1991; 19(1): 55-61.
37. Ferreira ALA, Matsubara LS. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Rev Ass Med Bras.* 1997; 43: 61-8.
38. Berra CM, Menk CFM. Estresse oxidativo, lesões no genoma e processos de sinalização no controle do ciclo celular. *Quim Nova.* 2006; 29: 1340-4.
39. Pravda J. Radical induction theory of ulcerative colitis. *World J Gastroenterol.* 2005; 11(16): 2371-84.
40. Millar AD, et al. Evaluating the antioxidant potential of new treatments for inflammatory bowel disease using a rat model of colitis. *Gut.* 1996; 39(3): 407-15.
41. Sheridan AM, et al. Lipid peroxidation contributes to hydrogen peroxide induced cytotoxicity in renal epithelial cells. *Kidney Int.* 1996; 49(1): 88-93.
42. Filipe MI. Mucins in the human gastrointestinal epithelium: a review. *Invest Cell Pathol.* 1979; 2(3): 195-216.
43. Filipe MI. Value of histochemical reactions for muco substances in the diagnosis of certain pathological conditions of the colon and rectum. *Gut.* 1969; 10(7): 577-86.
44. Leppi TJ, Spicer SS. The histochemistry of mucins in certain primate salivary glands. *Am J Anat.* 1966; 118(3): 833-59.
45. Uchida K, et al. A mucinous histochemical study on malignancy of aberrant cryptfoci (ACF) in rat colon. *J Vet Med Sci.* 2001; 63(2): 145-9.
46. Castro MA, et al. Histological and histochemical changes of the intestinal mucosa at the urothelial-enteric anastomotic site. *Int Braz J Urol.* 2006; 32(2): 222-7.
47. Almeida LP. Caracterização de pigmentos da *Curcuma longa* L. Avaliação da atividade antimicrobiana, morfogênese in vitro na produção de

curcuminóides e óleos essenciais. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia). Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, Minas Gerais, 2006.

48. Jurenka JS. Anti-inflammatory properties of curcumin, a major constituent of *Curcuma longa*: a review of preclinical and clinical research. *Alternative Medicine Review*. 2009; 14(2): 141-153.

49. Chandra D, Gupta SS. Anti-inflammatory and anti-arthritic activity of volatile oil of *Curcuma longa* (Haldi). *Indian J Med Res*. 1972; 60(1): 138-142.

50. Koosirirat C, et al. Investigation of the anti-inflammatory effect of *Curcuma longa* in *Helicobacter pylori*-infected patients. *Int Immunopharmacol*. 2010; 10(7): 815-8.

51. Shakibaei M, et al. Curcumin enhances the effect of chemotherapy against colorectal cancer cells by inhibition of NF- κ B and Src protein kinase signaling pathways. *PLoS One*. 2013; 8(2): e57218.

52. Ahmed T, Gilani AH. Therapeutic potential of turmeric in Alzheimer's disease: curcumin or curcuminoids? *Phytother Res*. 2014; 28(4): 517-25.

53. Chuengsamarn S, et al. Reduction of atherogenic risk in patients with type 2 diabetes by curcuminoid extract: a randomized controlled trial. *J Nutr Biochem*. 2014; 25(2): 144-50.

54. Mourtas S, et al. Multifunctional nanoliposomes with curcumin-lipid derivative and brain targeting functionality with potential applications for Alzheimer disease. *Eur J Med Chem*. 2014; 80: 175-83.

55. Neerati P, Devde R, Gangi AK. Evaluation of the effect of curcumin capsules on glyburide therapy in patients with type-2 diabetes mellitus *Phytother Res*. 2014; 28(12): 1796-800.

56. Nonose N. Avaliação dos efeitos da curcumina na fase aguda da artrite induzida por zimosan estudo experimental em ratos. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde). Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciências da Saúde, Universidade São Francisco, Bragança Paulista, 2011.

57. Nonose N, et al. Oral administration of curcumin (*Curcuma longa*) can attenuate the neutrophil inflammatory response in zymosan-induced arthritis in rats. *Acta Cir Bras*. 2014; 29(11): 727-734.

58. Panahi Y, et al. Curcuminoid treatment for knee osteoarthritis: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Phytother Res.* 2014; 28(11): 1625-31.
59. Wang P, et al. Mechanisms and effects of curcumin on spatial learning and memory improvement in APPswe/PS1dE9 mice. *J Neurosci Res.* 2014; 92(2): 218-31.
60. Zang S, et al. Curcumin: a promising agent targeting cancer stem cells. *Anticancer Agents Med Chem.* 2014; 14(6): 787-92.
61. Zhao X, et al. Codelivery of doxorubicin and curcumin with lipid nanoparticles results in improved efficacy of chemotherapy in liver cancer. *Int J Nanomedicine.* 2014; 10: 257-70.
62. Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). Available from: <http://www.cobea.org.br/estatuto>
63. Wong JM, Souza R, Kendall CW. Colonic health: fermentation and short chain fatty acids. *J Clin Gastroenterol.* 2006; 40: 235-43.
64. Nassri CGG, et al. Influência da irrigação de soluções nutricionais no colon excluso de trânsito intestinal: estudo experimental em ratos. *Rev bras Coloproctol.* 2008; 28: 306-14.
65. Laudanno OM, et al. Evidence of anti-oxidant role of sucralfate in gastric mucosal protection. *Ital J Gastroenterol.* 1990. 22: 19-21.
66. Cunha FL, et al. 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.* 2011; 26: 289-96.
67. Almeida MG, et al. Evaluation of topical n-acetylcysteine in diversion colitis. *Journal of Coloproctology.* 2012; 32: 223-31.
68. Aggarwal BB, Kumar A, Bharti AC. Anticancer potential of curcumin: preclinical and clinical studies. *Anticancer Res.* 2003; 23(1): 363-98.
69. Chandran B, Goel A. A randomized, pilot study to assess the efficacy and safety of curcumin in patients with active rheumatoid arthritis. *Phytother Res.* 2012; 26(11): 1719- 25.
70. Coradini K, et al. A novel approach to arthritis treatment based on resveratrol and curcumin co- encapsulated in lipid-core nanocapsules: In vivo studies. *Eur J Pharm Sci.* 2015; 78: 163-70.

71. Kiso Y, et al. Antihepatotoxic principles of *Curcuma longa* rhizomes. *Planta Med.* 1983; 49(3): 185-7.
72. Brouet I, Ohshima H. Curcumin, an anti-tumour promoter and anti-inflammatory agent, inhibits induction of nitric oxide synthase in activated macrophages. *Biochem Biophys Res Commun.* 1995; 206(2): 533-40.
73. Limtrakul P, et al. Inhibitory effect of dietary curcumin on skin carcinogenesis in mice. *Cancer Lett.* 1997; 116(2): 197-203.
74. Aggarwal BB, Sung B. Pharmacological basis for the role of curcumin in chronic diseases: an age-old spice with modern targets. *Trends Pharmacol Sci.* 2008; 30(2): 85- 94.
75. Kim DC, Ku SK, Bae JS. Anticoagulant activities of curcumin and its derivatives. *BMB Rep.* 2012; 45(4): 221-6.
76. Hasan ST, et al. Curcumin modulation of high fat diet-induced atherosclerosis and steatohepatosis in LDL receptor deficient mice. *Atherosclerosis.* 2014; 232(1): 40-51.
77. Jeengar MK, et al. Improvement of bioavailability and anti-inflammatory potential of curcumin in combination with emu oil. *Inflammation.* 2014; 37(6): 2139-55.
78. Reddy AC, Lokesh BR. Effect of dietary turmeric (*Curcuma longa*) on iron-induced lipid peroxidation in the rat liver. *Food Chem Toxicol.* 1994; 32(3): 279-83.
79. Unnikrishnan MK, Rao MN. Curcumin inhibits nitrogen dioxide induced oxidation of hemoglobin. *Mol Cell Biochem.* 1995; 146(1): 35-7.
80. Sreejayan N, Rao MN. Free radical scavenging activity of curcuminoids. *Arzneimittelforschung*, 1996; 46(2): 169-71.
81. Sreejayan N, Rao MN. Nitric oxide scavenging by curcuminoids. *J Pharm Pharmacol.* 1997; 49(1): 105-7.
82. Sugimoto K, et al. Curcumin prevents and ameliorates trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis in mice. *Gastroenterology.* 2002; 123(6): 1912-22.
83. Holt PR, Kattz S, Kirshoff R. Curcumin therapy in inflammatory bowel disease: a pilot study. *Dig Dis Sci.* 2005; 50(11): 2191-3.

84. Hanai H, et al. Curcumin maintenance therapy for ulcerative colitis: randomized, multicenter, double-blind, placebo-controlled trial. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2006; 4(12): 1502-6.
85. Kumar S, et al. Curcumin for maintenance of remission in ulcerative colitis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012; 17(10): CD008424.
86. Nguyen GC, et al. Use of complementary and alternative medicine for inflammatory bowel disease is associated with worse adherence to conventional therapy: The COMPLIANT study. *Inflamm Bowel Dis*. 2016; 22(6): 1523-30.
87. Vecchi BL, et al. Curcumin and inflammatory bowel disease: potential and limits of innovative treatments. *Molecules*. 2014; 19(12): 21127-53.
88. Guzman-Villanueva D, et al. Design and in vitro evaluation of a new nano-microparticulate system for enhanced aqueous- phase solubility of curcumin. *Biomed Res Int*. 2013; 20(13): 724-63.
89. Martinez CA, et al. Enemas with N-acetylcysteine can reduce the level of oxidative damage in cells of the colonic mucosa diverted from the faecal stream. *Dig Dis Sci*. 2013; 58(12): 3452-9.
90. Martinez CA, et al. Claudin-3 and occludin tissue content in the glands of colonic mucosa with and without a fecal stream. *J Mol Histol*. 2015; 46(2): 183-94.
91. Martinez CAR, et al. Evaluation of the anti-inflammatory and antioxidant effects of the sucalfate in diversion colitis. *J. Coloproctol*. 2015; 35(2): 90-9.

ANEXOS

Carta de aprovação do Comitê de Ética

Comitê de Ética em Pesquisa – CEP	 UNIVERSIDADE SÃO FRANCISCO Bragança Paulista, 22 de Abril de 2010.
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA	
Projeto de Pesquisa: Avaliação dos efeitos antioxidantes do ácido 5-aminosalicílico, n-acetilcisteína, extrato aquoso de <i>Ilex paraguariensis</i> e <i>curcuma longa</i> na colite de exclusão. Estudo experimental em ratos.	
ÁREA DE CONHECIMENTO: <i>Stricto Sensu</i> em Ciências da Saúde	
Autor(es): Prof. Dr. Carlos Augusto Real Martinez; Prof. Dr. Marcelo Lima Ribeiro; Profa. Dra. Patrícia de Oliveira Carvalho; Profa. Dra. Alessandra Gambero; Prof. Ms. José Aires Pereira	
Instituição: UNIVERSIDADE SÃO FRANCISCO	
Protocolo: 002.04.10	
Prezado(a)(s) Pesquisador(a)(s),	
O Comitê de Ética em Pesquisa – CEP, da Universidade São Francisco, analisou em reunião extraordinária do dia 22/04/2010 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	
 Maria Betânia de Oliveira Garcia Coordenadora do Comitê de Ética no Uso de Animal em Pesquisa Universidade São Francisco	

Ficha de informações de segurança de produtos químicos

SIGMA-ALDRICHsigma-aldrich.com**FICHA DE INFORMAÇÕES DE SEGURANÇA DE PRODUTOS QUÍMICOS**Versão 5.6
Data de revisão 21.12.2015
Data de impressão 26.10.2016**1. IDENTIFICAÇÃO DO PRODUTO E DA EMPRESA****1.1 Identificadores do produto**

Nome do produto : Curcumin

Referência do Produto : C1386

Marca : Sigma

1.2 Outros meios de identificaçãoNatural Yellow 3
(E,E)-1,7-bis(4-Hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione
Diferulylmethane
Diferuloylmethane**1.3 Utilizações identificadas relevantes da substância ou mistura e utilizações desaconselhadas**

Só para utilização R&D. Não para utilização farmacêutica, doméstica ou outras utilizações.

1.4 Identificação do fornecedor da ficha de dados de segurançaCompanhia : Sigma-Aldrich Brasil Ltda.
Av. das Nações Unidas, 23.043
04795-100 SÃO PAULO - SP
BRAZIL

Telefone : +55 11 3732 3100

Número de Fax : +55 11 5522 9895

Email endereço : sigmabr@sial.com**1.5 Número de telefone de emergência**

0800-720-8000

2. IDENTIFICAÇÃO DE PERIGOS**2.1 Classificação GHS**Toxicidade aguda, Oral (Categoria 5)
Irritação cutânea (Categoria 2)
Irritação ocular (Categoria 2A)
Toxicidade para órgãos-alvo específicos - exposição única (Categoria 3)**2.2 Elementos da Etiqueta GHS, incluindo declarações de prevenção**

Pictograma



Palavra de advertência : Atenção

Frases de Perigo

H303

Pode ser perigoso por ingestão.

H315

Provoca irritação cutânea.

H319

Provoca irritação ocular grave.

H335

Pode provocar irritação das vias respiratórias.

Frases de Precaução**Prevenção**

P261 Evitar respirar as poeiras/ fumos/ gases/ névoas/ vapores/ aerossóis.
 P264 Lavar a pele cuidadosamente após manuseamento.
 P271 Utilizar apenas ao ar livre ou em locais bem ventilados.
 P280 Usar luvas de protecção/ protecção ocular/ protecção facial.

Resposta

P302 + P352 SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: lavar abundantemente com sabonete e água.

P304 + P340 EM CASO DE INALAÇÃO: retirar a vítima para uma zona ao ar livre e mantê-la em repouso numa posição que não dificulte a respiração.

P305 + P351 + P338 SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar. Caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico.

P312 Tratamento específico (ver as instruções suplementares de primeiros socorros no presente rótulo).

P332 + P313 Em caso de irritação cutânea: consulte um médico.

P337 + P313 Caso a irritação ocular persista: consulte um médico.

P362 Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar.

Armazenagem

P403 + P233 Armazenar em local bem ventilado. Manter o recipiente bem fechado.
 P405 Armazenar em local fechado à chave.

Destruição

P501 Eliminar o conteúdo/ recipiente em instalação aprovada de destruição de resíduos.

2.3 Outros Perigos - nenhum(a)**3. COMPOSIÇÃO E INFORMAÇÕES SOBRE OS INGREDIENTES****3.1 Substâncias**

Sinónimos : Natural Yellow 3
 (E,E)-1,7-bis(4-Hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione
 Diferulylmethane
 Diferuloylmethane

Formula : $C_{21}H_{20}O_6$

Peso molecular : 368.38 g/mol

No. CAS : 458-37-7

Componente		Concentração
No. CAS	458-37-7	<= 100 %
No. CE	207-280-5	

4. MEDIDAS DE PRIMEIROS-SOCORROS**4.1 Descrição das medidas de primeiros socorros****Recomendação geral**

Consultar um médico. Mostrar esta ficha de segurança ao médico de serviço.

Em caso de inalação

Se for respirado, levar a pessoa para o ar fresco. Se não respirar, dar respiração artificial. Consultar um médico.

Em caso de contacto com a pele

Lavar com sabão e muita água. Consultar um médico.

Se entrar em contacto com os olhos

Lavar cuidadosamente com muita água, durante pelo menos quinze minutos, e consultar o médico.

Em caso de ingestão

Nunca dar nada pela boca a uma pessoa inconsciente. Enxaguar a boca com água. Consultar um médico.

4.2 Sintomas e efeitos mais importantes, tanto agudos como retardados

Até onde sabemos, as propriedades químicas, físicas e toxicológicas não foram minuciosamente investigadas.

4.3 Indicações sobre cuidados médicos urgentes e tratamentos especiais necessários

Dados não disponíveis

5. MEDIDAS DE COMBATE A INCÊNDIO**5.1 Meios de extinção****Meios adequados de extinção**

Utilizar água pulverizada, espuma resistente ao álcool, produto químico seco ou dióxido de carbono.

5.2 Perigos especiais decorrentes da substância ou mistura

Óxidos de carbono

5.3 Recomendações para o pessoal de combate a incêndios

Usar equipamento de respiração autónomo para combate a incêndios, se necessário.

5.4 Outras informações

Dados não disponíveis

6. MEDIDAS DE CONTROLE PARA DERRAMAMENTO OU VAZAMENTO**6.1 Precauções individuais, equipamento de proteção e procedimentos de emergência**

Usar equipamento de proteção individual. Evitar a formação de poeira. Evitar a respiração do vapor/névoa/gas. Assegurar ventilação adequada. Evacuar o pessoal para áreas de segurança. Evitar de respirar o pó.

6.2 Precauções a nível ambiental

Não permitir a entrada do produto no sistema de esgotos.

6.3 Métodos e materiais de confinamento e limpeza

Apanhar os resíduos sem levantar poeiras. Varrer e apanhar com uma pá. Manter em recipientes fechados adequados, para eliminação.

6.4 Remissão para outras secções

Para eliminação de resíduos ver secção 13.

7. MANUSEIO E ARMAZENAMENTO**7.1 Precauções para um manuseamento seguro**

Evitar o contacto com a pele e os olhos. Evitar a formação de pó e aerossóis. Providenciar uma adequada ventilação em locais onde se formem poeiras.

7.2 Condições de armazenagem segura, incluindo eventuais incompatibilidades

Armazenar em local fresco. Guardar o recipiente herméticamente fechado em lugar seco e bem ventilado. Temperatura recomendada de armazenagem -20 °C

7.3 Utilizações finais específicas

Dados não disponíveis

8. CONTROLE DE EXPOSIÇÃO E PROTEÇÃO INDIVIDUAL

8.1 Parâmetros de controlo

Límites de exposição ocupacional

Nós não temos conhecimento de nenhuma limite de exposição nacional.

8.2 Controlo da exposição

Controlos técnicos adequados

Manusear de acordo com as boas práticas industriais de higiene e segurança. Lavar as mãos antes dos intervalos e no final do dia de trabalho.

Protecção individual

Protecção ocular/ facial

Óculos de protecção com um lado protector de acordo com EN 166 Use equipamento de protecção ocular testado e aprovado de acordo com as normas governamentais adequadas, tais como NIOSH (US) ou EN 166 (EU).

Protecção da pele

Manusear com luvas. As luvas devem ser inspeccionadas antes da utilização. Use uma técnica adequada para a remoção das luvas (sem tocar a superfície exterior da luva) para evitar o contacto da pele com o produto. Descarte as luvas contaminadas após o uso, em conformidade com as leis e boas práticas de laboratório. Lavar e secar as mãos.

As luvas de protecção seleccionadas devem satisfazer as especificações da Directiva da UE 89/689/CEE e a norma EN 374 derivada dela.

Contacto total

Material: Borracha de nitrilo

espessura mínima da capa: 0.11 mm

Pausa através do tempo: 480 min

Material ensaiado: Dermatrill® (KCL 740 / Aldrich Z677272, Tamanho M)

Contacto com salpicos

Material: Borracha de nitrilo

espessura mínima da capa: 0.11 mm

Pausa através do tempo: 480 min

Material ensaiado: Dermatrill® (KCL 740 / Aldrich Z677272, Tamanho M)

fonte de dados: KCL GmbH, D-36124 Eichenzell, Telefone +49 (0)6659 87300, e-mail sales@kcl.de, Método de ensaio: EN374

Se for utilizado em solução, ou misturado com outras substâncias, e sob condições que diferem da EN 374, contactar o fornecedor de luvas da CE. Esta recomendação é apenas desejável e deve ser avaliada por um responsável de segurança e higiene industrial familiarizado com a situação específica de utilização pretendida pelos nossos clientes. Não deve ser interpretado como uma oferta de aprovação para qualquer cenário de uso específico

Protecção do corpo

Roupas impermeáveis. O tipo de equipamento de protecção deve ser escolhido de acordo com a concentração e a quantidade da substância perigosa no local de trabalho.

Protecção respiratória

Para exposições incómodas usar respiradores de partículas tipo P95 (E.U.) ou do tipo P1 (UE EN 143). Para maior nível de protecção use respirador tipo OV/AG/P99 (US) ou respiradores com cartuchos tipo ABEK-P2 (EU EN 143). Use respiradores e componentes testados e aprovados por normas governamentais apropriadas, tais como as NIOSH (E.U.A.) ou CEN (UE).

9. PROPRIEDADES FÍSICAS E QUÍMICAS

9.1 Informações sobre propriedades físicas e químicas de base

- | | |
|-----------|-----------------------|
| a) Aspeto | Forma: pó |
| b) Odor | Dados não disponíveis |

Sigma - C1386 Curcumin

Página 4 de 7
Data de revisão 21.12.2015

c) Limite de Odor	Dados não disponíveis
d) pH	Dados não disponíveis
e) Ponto de fusão/ponto de congelamento	Ponto/intervalo de fusão: 175 °C
f) Ponto de ebulição inicial e intervalo de ebulição	Dados não disponíveis
g) Ponto de fulgor	Dados não disponíveis
h) Taxa de evaporação	Dados não disponíveis
i) Inflamabilidade (sólido, gás)	Dados não disponíveis
j) Limites de inflamabilidade superior / inferior ou explosividade	Dados não disponíveis
k) Pressão de vapor	Dados não disponíveis
l) Densidade de vapor	12.72 - (Ar = 1.0)
m) Densidade relativa	Dados não disponíveis
n) Hidrossolubilidade	Dados não disponíveis
o) Coeficiente de partição n-octanol/água	Dados não disponíveis
p) Temperatura de auto-ignição	Dados não disponíveis
q) Temperatura de decomposição	Dados não disponíveis
r) Viscosidade	Dados não disponíveis

10. ESTABILIDADE E REATIVIDADE

10.1 Reatividade

Dados não disponíveis

10.2 Estabilidade química

Dados não disponíveis

10.3 Possibilidade de reações perigosas

Dados não disponíveis

10.4 Condições a evitar

Dados não disponíveis

10.5 Materiais incompatíveis

Dados não disponíveis

10.6 Produtos de decomposição perigosos

Outros produtos de decomposição perigosos - Dados não disponíveis

11. INFORMAÇÕES TOXICOLÓGICAS

11.1 Informações sobre os efeitos toxicológicos

Toxicidade aguda

DL50 Oral - Rato - > 2,000 mg/kg

DL50 Oral - Ratazana - > 2,000 mg/kg

Inalação: Dados não disponíveis

Corrosão/irritação cutânea

Dados não disponíveis

Lesões oculares graves/irritação ocular

Dados não disponíveis

Sensibilização respiratória ou cutânea

Dados não disponíveis

Mutagenicidade em células germinativas

Dados não disponíveis

Carcinogenicidade

IARC: Nenhum componente deste produto presente a níveis maiores ou iguais a 0.1% é identificado como carcinogénio provável, possível ou confirmado pelo IARC.

Toxicidade à reprodução e lactação

Dados não disponíveis

Toxicidade sistêmica para órgãos-alvo específicos - exposição única

Pode provocar irritação das vias respiratórias.

Toxicidade sistêmica para órgãos-alvo específicos - exposição repetida

Dados não disponíveis

Perigo de aspiração

Dados não disponíveis

Possíveis danos para a saúde

Inalação	Pode ser perigoso se for inalação. Causa uma irritação no aparelho respiratório.
Ingestão	Pode ser perigoso se for engolido.
Pele	Pode ser perigoso se for absorvido pela pele. Causa uma irritação da pele.
Olhos	Provoca irritação ocular grave.

Sinais e sintomas de exposição

Até onde sabemos, as propriedades químicas, físicas e toxicológicas não foram minuciosamente investigadas.

Informação adicional

RTECS: MI5230000

Outras informações

Dados não disponíveis

12. INFORMAÇÕES ECOLÓGICAS**12.1 Ecotoxicidade**

Dados não disponíveis

12.2 Persistência e degradabilidade

Dados não disponíveis

12.3 Potencial biocumulativo

Dados não disponíveis

12.4 Mobilidade no solo

Dados não disponíveis

12.5 Resultados da avaliação PBT e mPmB

Dados não disponíveis

12.6 Outros efeitos adversos

Dados não disponíveis

13. CONSIDERAÇÕES SOBRE TRATAMENTO E DISPOSIÇÃO

13.1 Métodos de tratamento de resíduos

Produto

Propor a entrega de soluções excedentes e não recicláveis a uma empresa idônea de tratamento de resíduos. Dissolver ou misturar o material com um solvente combustível e queimar em incinerador químico equipado com pós-combustor e purificador de gases.

Embalagens contaminadas

Eliminar como produto Não utilizado.

14. INFORMAÇÕES SOBRE TRANSPORTE

14.1 Número ONU

ADR/RID: - DOT (US): - IMDG: - IATA: - ANTT: -

14.2 Designação oficial de transporte da ONU

ADR/RID: Mercadorias não perigosas

DOT (US): Mercadorias não perigosas

IMDG: Mercadorias não perigosas

IATA: Mercadorias não perigosas

ANTT: Mercadorias não perigosas

14.3 Classes de perigo para efeitos de transporte

ADR/RID: - DOT (US): - IMDG: - IATA: - ANTT: -

14.4 Grupo de embalagem

ADR/RID: - DOT (US): - IMDG: - IATA: - ANTT: -

14.5 Perigos para o ambiente

ADR/RID: não DOT (US): não IMDG Poluente marinho: não IATA: não

14.6 Precauções especiais para o utilizador

Dados não disponíveis

14.7 Numero De Risco

15. REGULAMENTAÇÕES

15.1 Regulamentação/legislação específica para a substância ou mistura em matéria de saúde, segurança e ambiente

Esta Ficha de Informações de Produtos Químicos foi preparada de acordo com a NBR 14725-4/2012 da ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas)

16. OUTRAS INFORMAÇÕES

Outras informações

Direitos exclusivos, 2015, da Sigma-Aldrich Co. LLC. Permissão concedida para fazer número ilimitado de cópias em papel, somente para uso interno.

Acredita-se que as informações acima estejam correctas, embora não pretendam ser totalmente abrangentes, devendo ser usadas apenas como um guia. A informação contida neste documento esta baseada no presente estado do nosso conhecimento e é aplicável às precauções de segurança apropriadas para o produto. Não representa nenhuma garantia das propriedades do produto. A Corporação Sigma-Aldrich e as suas companhias afiliadas, não responderão por nenhum dano resultante do manuseio ou do contato com o produto acima. Consultar www.sigma-aldrich.com e/ou o verso da factura ou nota que acompanha o produto para tomar conhecimento dos termos adicionais e condições de venda.

Figura ilustrativa da *Curcuma longa*



<https://institutoalmaconsciente.wordpress.com/2014/11/26/acafrao-da-india>

Submissão e carta de aceitação do artigo científico a Revista Acta Cirúrgica Brasileira

Submission Confirmation

 Print

Thank you for your submission

Submitted to Acta Cirúrgica Brasileira

Manuscript ID ACB-2016-0279

Title Tissue sulfomucin and sialomucin content in colon mucosa without intestinal transit subjected to intervention with *Curcuma longa* (curcumin)

Authors Alves Júnior, Antônio José
Pereira, José
Pansani, Adrieli
Magro, Daniela
Coy, Cláudio
Martinez, Carlos

Date Submitted 28-Dec-2016

Decision Letter (ACB-2016-0279)

From: actacirbras@gmail.com

To: antonio_xxxv@yahoo.com.br

CC:

Subject: Acta Cirúrgica Brasileira - Decision on Manuscript ID ACB-2016-0279

Body: 26-Feb-2017

Dear Dr. Alves Júnior:

It is a pleasure to accept your manuscript entitled "Tissue sulfomucin and sialomucin content in colon mucosa without intestinal transit subjected to intervention with *Curcuma longa* (curcumin)" in its current form for publication in the Acta Cirúrgica Brasileira.

The comments of the reviewer(s) who reviewed your manuscript are included at the foot of this letter.

Our publishing team will contact you for further details.

Thank you for your fine contribution. On behalf of the Editors of the Acta Cirúrgica Brasileira, we look forward to your continued contributions to the Journal.

Sincerely,
Prof. Edna Montero
Editor-in-Chief, Acta Cirúrgica Brasileira
actacirbras@gmail.com