



ENEMA DE SULCRALFATO PODE PREVENIR COLITE EM SEGMENTOS COLÔNICOS SEM TRÂNSITO FECAL?

CAN SUCRALFATE ENEMA PREVENT COLITIS IN COLONIC SEGMENTS WITHOUT FECAL TRANSIT?

Roberta Laís Silva MENDONÇA¹®, Danilo Toshio KANNO¹®, José Aires PEREIRA¹®, Fabio Guilherme CAMPOS²®, Camila Morais Gonçalves da SILVA³®, Bruna Zini de Paula FREITAS¹®, Carlos Augusto Real MARTINEZ^{1,4}®

RESUMO – RACIONAL: O estresse oxidativo é um dos principais mecanismos associados à ruptura dos mecanismos de defesa que formam a barreira epitelial cólica e reduz o conteúdo tecidual das proteínas claudina-3 e ocludina principais constituintes das junções de oclusão intercelulares. O sucralfato, possui atividade antioxidante e tem sido usado para tratar diferentes formas de colite. **OBJETIVO:** Mensurar o conteúdo tecidual de claudina-3 e ocludina da mucosa do cólon sem trânsito fecal, submetido à intervenção com sucralfato. **MÉTODO:** Trinta e seis ratos foram submetidos à colostomia do cólon esquerdo e fistula mucosa distal. Os animais foram divididos em dois grupos de acordo com a eutanásia ser realizada duas ou quatro semanas após a intervenção. Cada grupo foi dividido em três subgrupos de acordo com o tipo de intervenção realizada diariamente: solução salina isolada; sucralfato a 1 g/kg/dia ou sucralfato a 2g/kg/dia. A colite foi diagnosticada por análise histológica adotando escala de validação prévia. A expressão tecidual de ambas as proteínas foi identificada por imunohistoquímica. O conteúdo das proteínas foi quantificado por análise de imagem assistida por computador. **RESULTADOS:** O escore inflamatório foi maior nos segmentos cólicos sem trânsito fecal e os enemas com sucralfato reduziram o escore inflamatório nesses segmentos, principalmente nos animais submetidos à intervenção com sucralfato em maior concentração e por período mais longo de intervenção. Houve aumento no conteúdo tecidual das proteínas claudina-3 e ocludina, relacionado com a concentração de sucralfato. O conteúdo tecidual de ambas as proteínas não se modificou com a duração da intervenção. **CONCLUSÃO:** Enemas com sucralfato reduzem a inflamação e aumentam o conteúdo tecidual de claudina-3 e ocludina na mucosa cólica sem trânsito intestinal.

DESCRITORES: Colite. Claudina-3. Ocludina. Processamento de imagem assistida por computador. Sucralfato.



A) Cólon sem trânsito fecal não tratado; B) cólon sem trânsito fecal tratado com sucralfato

Mensagem central

A aplicação de enemas com sucralfato reduziu o processo inflamatório e aumentou o conteúdo das proteínas claudina-3 e ocludina em modelo experimental de colite de exclusão.

Perspectivas

Colite de exclusão é uma doença inflamatória que ocorre no cólon desprovido de trânsito fecal. A doença compromete a qualidade de vida dos enfermos e a restauração do trânsito é a melhor opção terapêutica. Ainda, em muitos doentes não pode ser realizada. Assim, estratégias terapêuticas acessíveis, de baixo custo que revertam o processo inflamatório e restabeleçam a integridade epitelial são bem-vindas. Neste estudo mostramos que o uso de enemas com sucralfato foi eficaz para o tratamento da enfermidade.

ABSTRACT – BACKGROUND: Oxidative stress is one of the main mechanisms associated with the rupture of the defense mechanisms of the colonic epithelial barrier; it reduces the tissue content of the claudin-3 and occludin proteins, which are the main constituents of intercellular tight junctions. Sucralfate (SCF) has antioxidant activity and has been used to treat different forms of colitis. **AIM:** This study aimed to measure the tissue claudin-3 and occludin content of the colon mucosa without fecal transit, subjected to intervention with SCF. **METHODS:** Thirty-six rats were subjected to left colon colostomy and distal mucous fistula. They were divided into two groups according to euthanasia that was performed 2 or 4 weeks after the intervention. Each group was divided into three subgroups according to the enema applied daily: saline alone, SCF at 1 g/kg/day, or SCF at 2 g/kg/day. Colitis was diagnosed by the histological analysis adopting the previous validate scale. The tissue expression of both proteins was identified by immunohistochemical technique. The content of proteins was quantified by computer-assisted image analysis. **RESULTS:** The inflammatory score was high in colonic segments without fecal transit, and enemas with SCF reduced the inflammatory score in these segments, mainly in those animals submitted to intervention with SCF in greater concentration and for a longer period of intervention. There was an increase in tissue content of claudin-3 and occludin, related to SCF concentration. The tissue content of both proteins was not related to the intervention time. **CONCLUSION:** Enemas with SCF reduced the inflammation and increased the tissue content of claudin-3 and occludin in colonic mucosa without fecal stream.

HEADINGS: Colitis. Claudin-3. Occludin. Image processing. Computer-assisted. Sucralfate.



www.facebook.com/abcdrevista



www.instagram.com/abcdrevista



www.twitter.com/abcdrevista

Trabalho realizado no ¹Laboratório de Investigação Médica, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade São Francisco, Bragança Paulista, SP, Brasil; ²Departamento de Gastroenterologia, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil; ³Departamento de Farmacologia, Centro Universitário da Uni Metrocamp, Campinas, SP, Brasil; ⁴Departamento de Cirurgia, Universidade Estadual de Campinas - Unicamp, Campinas, São Paulo - SP, Brasil.

Como citar esse artigo: Mendonça RLS, Kanno DT, Pereira JA, Campos FG, Silva CMG, Freitas BZP, Martinez CAR. Enema de sucralfato pode prevenir colite em segmentos colônicos sem trânsito fecal? ABCD Arq Bras Cir Dig. 2021;34(4):e1630. <https://doi.org/10.1590/0102-672020210002e1630>

Correspondência:
Carlos Augusto Real Martinez
Email: caomartinez@uol.com.br

Fonte de financiamento: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) – Ministério de Ciência e Tecnologia do Brasil (Processo número: 303837/2018-7).

Conflito de interesses: Nenhum.

Recebido: 25/04/2021

Aceito: 18/08/2021

INTRODUÇÃO

O epitélio colônico é a mais importante barreira de defesa do corpo humano¹. Composta apenas por uma única camada de células especializadas forma barreira altamente dinâmica e seletiva que controla a absorção de fluidos e solutos, restringindo o acesso de patógenos aos tecidos subjacentes^{7,31}. As células do epitélio colônico devem identificar e responder apropriadamente ao constante desafio imunológico do conteúdo luminal do cólon e, ao mesmo tempo, permitir a absorção de água, nutrientes e moléculas importantes para manter o metabolismo energético celular¹. Esta eficiente função de barreira é obtida por uma série de junções intercelulares que incluem junções de oclusão apicais (JOs), junções aderentes subjacente, desmossomos e junções comunicantes, que medeiam a adesão intercelular e a comunicação entre células epiteliais adjacentes¹⁴. A camada de muco que recobre o epitélio colônico, a membrana citoplasmática das células que formam as glândulas cólicas, membrana basal, formam a barreira mecânica, enquanto as imunoglobulinas, citocinas e leucócitos a barreira imunológica e, também participam desse mecanismo de defesa^{14,22}.

As JOs representam o componente mais apical dos sistemas de junções intercelulares e fornecem forma eficiente de adesão célula-célula no epitélio colônico³⁴. Elas conectam células adjacentes para determinar a permeabilidade paracelular controlada através do espaço intercelular lateral³⁴. Cada vez mais importância se atribui as JOs nos mecanismos de proliferação celular, produção de muco, identificação de antígenos e bactérias patogênicas e produção de peptídeos antimicrobianos para garantir uma diferenciação celular imunológica eficaz²⁷. As JOs são formadas por várias proteínas, como as da família das claudinas, occludina, tricelulina e molécula de adesão junctional¹⁶.

A inflamação da mucosa, conforme observada na doença inflamatória intestinal, compromete a barreira epitelial, resultando na exposição dos compartimentos estéreis do tecido da lâmina própria à antígenos luminiais e micróbios que contribuem, ainda mais, para a resposta inflamatória e lesão da barreira epitelial^{7,8,12}. Estudo experimental mostrou que na colite de exclusão (CE), uma doença inflamatória que ocorre em segmentos do cólon desprovidos de trânsito fecal, as JOs ficam comprometidas ocasionando ruptura da barreira epitelial^{18,27}. É possível que o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio por células epiteliais privadas do fornecimento normal de ácidos graxos de cadeia curta, principal substrato energético para o metabolismo normal dessas células, seja um dos possíveis mecanismos relacionados à quebra das proteínas constituintes das JOs^{4,9,27}. Essa possibilidade é reforçada pelos resultados de estudos mostrando que a aplicação de clisteres com várias substâncias com atividade antioxidante, ou soluções ricas em ácidos graxos de cadeia curta, podem melhorar o processo inflamatório da mucosa colônica excluída de trânsito fecal e restabelecer os diferentes mecanismos de defesa que formam a barreira epitelial^{15,21,23,35}.

O sucralfato (SCF) é um agente protetor celular usado há mais de três décadas no tratamento de úlceras pépticas duodenais e esofagite de refluxo²⁹. A substância é um complexo de sacarose e sulfato-alumínio que, ao entrar em contato com a mucosa inflamada do trato gastrointestinal, adere fortemente a proteínas da superfície das ulcerações, principalmente albumina e fibrinogênio, formando um complexo estável e insolúvel, criando uma camada protetora que recobre e protege o epitélio danificado^{20,27}. Estudos têm mostrado que o SCF pode ser usado com sucesso na reiteactínia^{20,28}. Recentemente demonstrou-se que o uso do SCF em altas concentrações reduz a produção de espécies reativas de oxigênio e melhora a cicatrização da mucosa em modelos experimentais de CE, mostrando que a substância possui atividade antioxidante¹⁹. Enemas com SCF

isolado ou associado à outras drogas têm demonstrado eficácia no tratamento de doenças inflamatórias intestinais e da CE^{2,10,18,24}. Contudo, do melhor do nosso conhecimento, nenhum estudo avaliou a eficácia da aplicação de clisteres contendo SCF, no conteúdo tecidual das proteínas claudina-3 e occludina no epitélio colônico desprovido de trânsito fecal. É possível que o SCF, devido à sua atividade antioxidante, possa proteger as JOs da ação nociva das espécies reativas de oxigênio.

Assim, o objetivo do presente estudo foi quantificar o conteúdo tecidual das proteínas claudina-3 e occludina na mucosa colônica desprovida de trânsito fecal submetida à aplicação diária de enemas contendo SCF em duas concentrações diferentes, por duas ou quatro semanas.

MÉTODOS

Este estudo foi realizado de acordo com a Lei Federal Brasileira No.11.794 é as orientações do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal(COBEA). Este estudo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais em Pesquisa, Universidade São Francisco, Bragança Paulista – SP, Brasil (Processo N°. 2211/07).

Técnica cirúrgica: derivação do trânsito intestinal

A metodologia cirúrgica utilizada para a indução da CE foi descrita anteriormente²⁴. Resumidamente, 36 ratos foram submetidos a anestesia geral por meio da administração intramuscular quetamina 0,1 ml/100g e xilazina (20 mg/ml), 1:1 (v/v). A parede abdominal foi aberta por incisão mediana com 5cm de extensão e o cólon esquerdo foi seccionado 8 cm acima da margem anal e o segmento cranial exteriorizado como uma colostomia proximal. O segmento distal do cólon esquerdo seccionado foi cateterizado com uma sonda de poliéster irrigado com solução salina até que o efluente drenado pelo ânus do animal não mais eliminasse resíduos fecais. Após a irrigação, o cateter foi removido, e o segmento distal do cólon exteriorizado como uma colostomia distal. A incisão abdominal foi fechada em dois planos de sutura. Durante o período pós-operatório, os ratos foram mantidos em gaiolas individuais, sem qualquer cuidado adicional com os estomas e incisão abdominal. A analgesia pós-operatória foi realizada pela administração de dipirona (15 mg/kg) diluída na água do bebedouro oferecida diariamente sendo utilizados antibióticos. Após a operação, os animais foram mantidos nas gaiolas individuais por um período de seis semanas para o desenvolvimento da CE. Este mesmo período foi adotado em estudos anteriores³⁰.

Grupos experimentais

Os 36 animais foram divididos em três grupos contendo 12 em cada. A intervenção com as soluções propostas foi iniciada seis semanas do pós-operatório da derivação do trânsito intestinal. O primeiro grupo recebeu enemas diários contendo SF 0,9%. O segundo e terceiro grupos receberam enemas diários contendo SCF (EMS Sigma Pharma Ltda., Brasil) em duas diferentes concentrações (1g/kg/dia e 2g/kg/dia, respectivamente). Em cada um dos grupos, seis animais foram sacrificados após duas semanas e outros seis após quatro semanas de intervenção.

Coleta das amostras

Após a conclusão do período de intervenção, os ratos foram novamente anestesiados como descrito anteriormente, e a incisão mediana foi novamente aberta. Em ambos os grupos, foram retirados espécimes do cólon sem trânsito fecal submetidos à irrigação com SF 0,9% ou SCF em ambas as concentrações. Foi retirado um espécime do cólon com 4,0 cm de comprimento.

Para padronizar as análises histológicas, em todos os animais, esses segmentos do cólon sem fluxo fecal foram removidos sempre 0,5 cm acima da placa linfóide de Peyer. A seguir, os espécimes foram abertos através da borda antimesentérica fixados em um pedaço de cortiça e encaminhados para técnicas histológica e imuno-histoquímica. A eutanásia foi realizada por injeção intracardíaca de dose letal de tiopental.

Análises histológicas

Os espécimes de cólon sem trânsito fecal removido para as análises histológicas foram imersos em solução de formaldeído tamponado a 10% por 24 h, desidratados por exposição a concentrações crescentes de etanol, xileno e incluídos em parafina. Em seguida, seções do tecido emblocado, com 5 µm de espessura, foram cortadas e montadas em uma lâmina de vidro. Posteriormente foram limpas, hidratadas e coradas com H&E para avaliação da presença de colite e do grau de inflamação. As lâminas foram analisadas em microscópio óptico (*Eclipse F-50, Nikon Inc., Osaka, Japão*) com ampliação de 200x. As lâminas foram preparadas e analisadas por patologista que desconhecia os objetivos do estudo e que avaliou tanto as alterações histológicas identificadas pela técnica da H&E quanto o estudo imunoistoquímico (anti-claudina-3 e anti-occludina).

Foram tiradas fotomicrografias utilizando uma câmera de captura de vídeo digital (DS-Fi-50; *Nikon Inc., Osaka, Japão*) acoplada ao corpo do microscópio. A presença de colite nos segmentos de cólon desprovidos de fluxo fecal foi confirmada considerando três parâmetros histológicos distintos: infiltração neutrofílica das camadas mucosa e submucosa, presença de erosões e ulceração epitelial e classificada em cruzes (+9) para cada variável considerada. A gravidade da inflamação na mucosa colônica desprovida de trânsito fecal foi estabelecida de acordo com uma escala de grau inflamatório previamente validada⁴.

Coloração imunoistoquímica

Para o estudo da imunexpressão das proteínas claudina-3 e occludina, utilizou-se metodologia padronizada adotada em outros estudos e obedecendo as recomendações técnicas dos fabricantes de cada um dos anticorpos primários¹⁶. Como anticorpo primário para pesquisa de claudina-3, foi empregado o anticorpo monoclonal anti-claudina-3 (Ref. E-3834, Lot. 110520, *Spring Bioscience, Pleasanton, CA, EUA*). O anticorpo primário anti-claudina-3 foi misturado numa diluição de 1:50 em soro de albumina bovina (1%). O anticorpo monoclonal anti-occludina (Ref. E-17464, Lot. 111207S, *Spring Bioscience, Pleasanton, CA, EUA*) foi diluído em 1:100 em soro de albumina bovina (1%). As lâminas foram cobertas com aproximadamente 100 µL dessas soluções e incubadas a 4°C por 24 h. Após a exposição ao anticorpo primário, as lâminas foram lavadas com PBS e incubadas com o anticorpo secundário (Lote: H1011 HistofineCode: 414191N, *Spring Bioscience, Pleasanton, CA, EUA*). Em seguida, foram incubados com o complexo estreptavidina-biotina-peroxidase (*ABC Staining System, Dako A/S, Glostrup, Dinamarca*). A reação cromogênica foi desenvolvida com solução recém-preparada de DAB (tetrahidroclorato de diaminobenzidina, 10 mg em 10 ml de PBS). As lâminas foram lavadas e contrastadas com verde de metila por um minuto e, a seguir, lavadas novamente em água destilada. Em seguida, as lâminas foram desidratadas por imersão em concentrações crescentes de etanol seguida de xileno. Por fim, foram montadas, etiquetadas e mantidas na posição horizontal por 24 h.

A imunocoloração foi considerada positiva quando se observava coloração acastanhada difusa com áreas de intensidade variável e distribuição homogênea nas membranas celular apical ou basolateral. Conforme recomendado pela bula de ambos os anticorpos primários usados, o controle negativo foi preparado sem a adição do anticorpo primário, enquanto o controle positivo para claudina-3 e occludina foi realizado usando tecido

de intestino delgado humano normal, que reconhecidamente apresenta positividade para ambas as proteínas.

Processamento de imagem assistido por computador

O conteúdo tecidual de claudina-3 e occludina foi quantificado por meio de morfometria computadorizada e sempre realizado em campo focal no qual havia pelo menos três glândulas colônicas íntegras e contíguas. Essas imagens foram analisadas com o programa *NIS-Elements 3.1 (Nikon Inc., Osaka, Japão)*. O programa transformava a intensidade da cor em número de pixels em cada campo histológico selecionado. Os valores dos pixels foram transformados em porcentagem da expressão da proteína pelos campos analisados (%/campo). O valor final obtido em cada campo analisado nos segmentos do cólon foi a média dos valores encontrados na avaliação de três campos diferentes.

Análise estatística

A análise estatística foi realizada considerando nível de significância de 5% ($p < 0,05$). Os dados obtidos de cada segmento de cólon analisado, em cada grupo experimental, foram expressos como valor médio com o respectivo erro padrão e analisados no programa estatístico *Biostat 5.0*. Para comparar o grau de escore inflamatório entre os diferentes grupos experimentais, foi utilizado o teste não paramétrico de Mann-Whitney. Para comparar o conteúdo de claudina-3 e occludina entre os diferentes subgrupos experimentais, foi utilizado o teste t de *Student*. Para analisar a variância do conteúdo de claudina-3 e occludina nos tecidos entre os diferentes grupos experimentais, foi utilizada o teste ANOVA.

RESULTADOS

Na Figura 1 observa-se segmentos colônicos desprovidos de trânsito fecal em animais submetidos à intervenção com SF 0,9% e SCF na concentração de 2,0g/kg/dia. Animais submetidos à intervenção com SF 0,9% apresentam maior dano epitelial quando comparados aos tratados com enemas contendo SCF na concentração de 2,0g/kg/dia.

Na Figura 2 observa-se o escore inflamatório, comparando segmentos colônicos sem trânsito fecal submetidos a intervenção com SF 0,9%, SCF 1,0g/kg/dia e 2,0 g/kg/dia, por duas ou quatro semanas. O escore inflamatório reduziu apenas nos animais submetidos a intervenção quando utilizado maiores concentrações da droga e maior período de intervenção.

Na Figura 3 observa-se a expressão tecidual de claudina-3, comparando segmentos colônicos sem trânsito fecal submetidos a intervenção com SF 0,9% e SCF na concentração de 2,0 g/kg/dia, por quatro semanas.

A Figura 4 compara o conteúdo tecidual de claudina-3 em segmentos colônicos sem trânsito fecal submetidos à intervenção com SF 0,9%, SCF 1,0g/kg/dia e 2,0 g/kg/dia, por duas e quatro semanas. O conteúdo tecidual de claudina-3 aumentou nos animais submetidos à intervenção com SCF independente da concentração utilizada ou do tempo de intervenção. Todavia, nos animais submetidos à intervenção com SCF em maiores concentrações o conteúdo tecidual de claudina-3 apresentou maior aumento.

Na Figura 5 observa-se a expressão tecidual da proteína occludina, comparando segmentos colônicos sem trânsito fecal submetidos à intervenção com SF 0,9% e SCF na concentração de 2,0 g/kg/dia, por duas ou quatro semanas.

Na Figura 6 observa-se a comparação do conteúdo tecidual de occludina nos segmentos colônicos sem trânsito fecal submetidos a intervenção com SF 0,9%, SCF 1,0g/kg/dia e 2,0 g/kg/dia, por duas ou quatro semanas. O conteúdo de

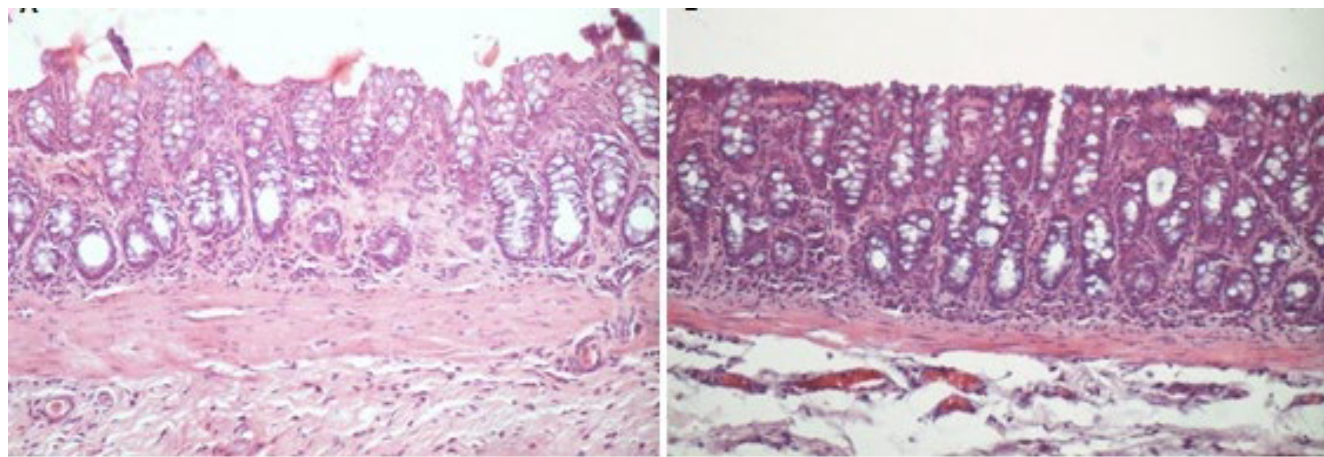
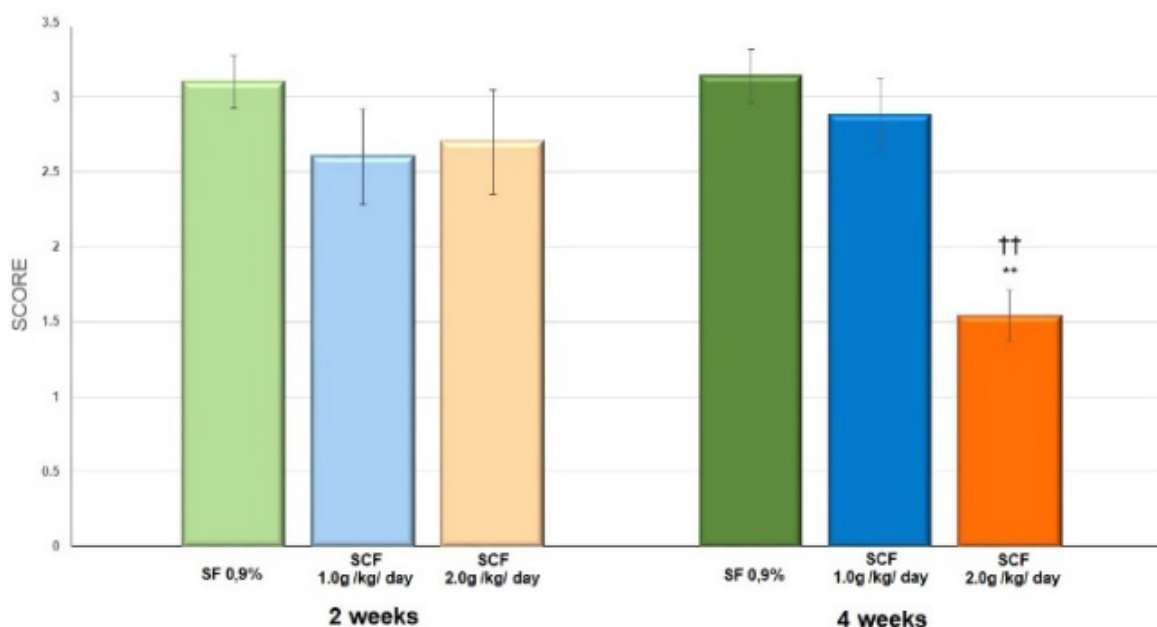


Figura 1 - A) Epitélio cólico sem trânsito fecal submetido a intervenção com SF 0,9% por quatro semanas; B) epitélio colônico desprovido de trânsito fecal submetido à intervenção com SCF na concentração de 2,0 g/kg/dia



**=significante: SCF 2,0 g/kg/dia x SF 0,9%; p < 0.01; †† =significante: SCF 2,0g/kg/dia x SCF 1,0 g/kg/dia, p < 0.01. Mann-Whitney test.

Figura 2 - Valores médios do escore inflamatório encontrado nos animais submetidos a intervenção com SF 0,9%, SCF 1,0g/kg/dia e 2,0 g/kg/dia por duas ou quatro semanas.

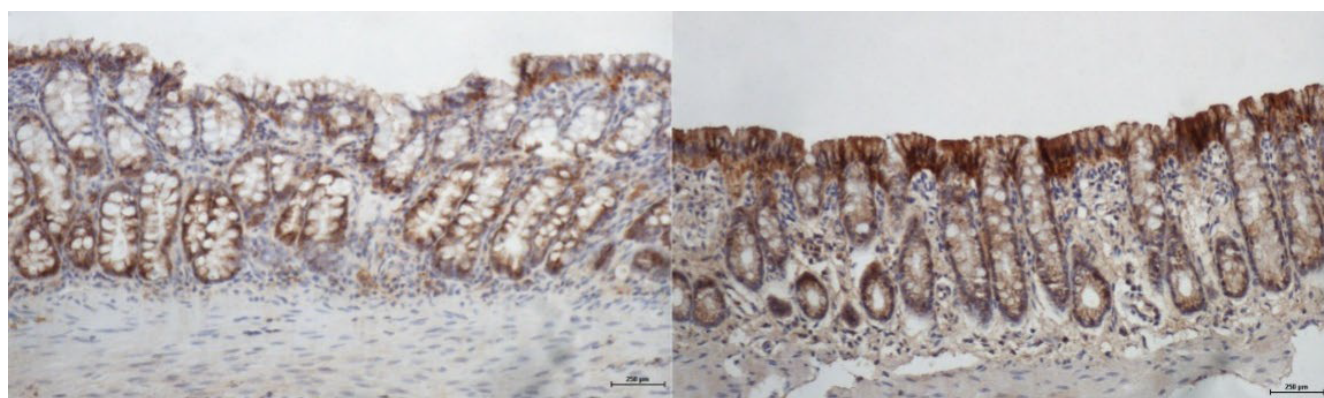
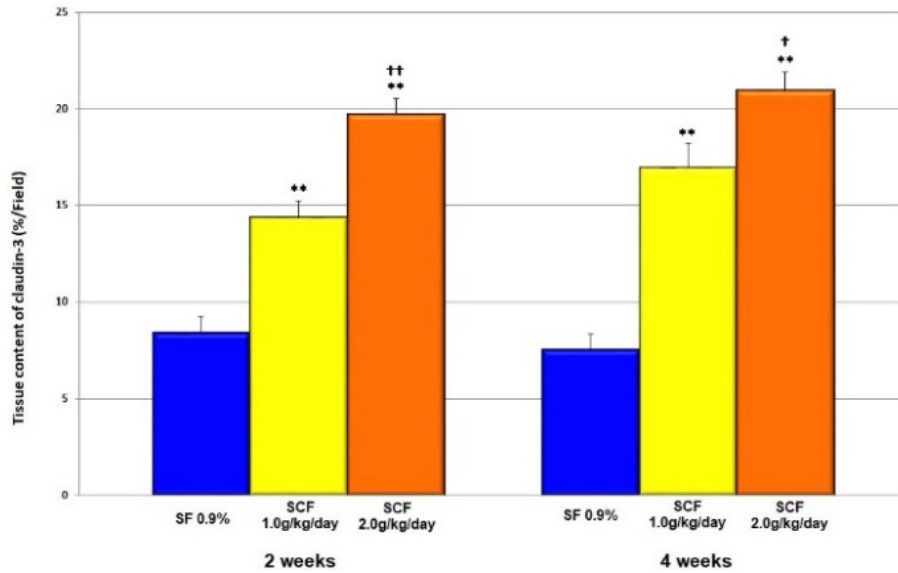
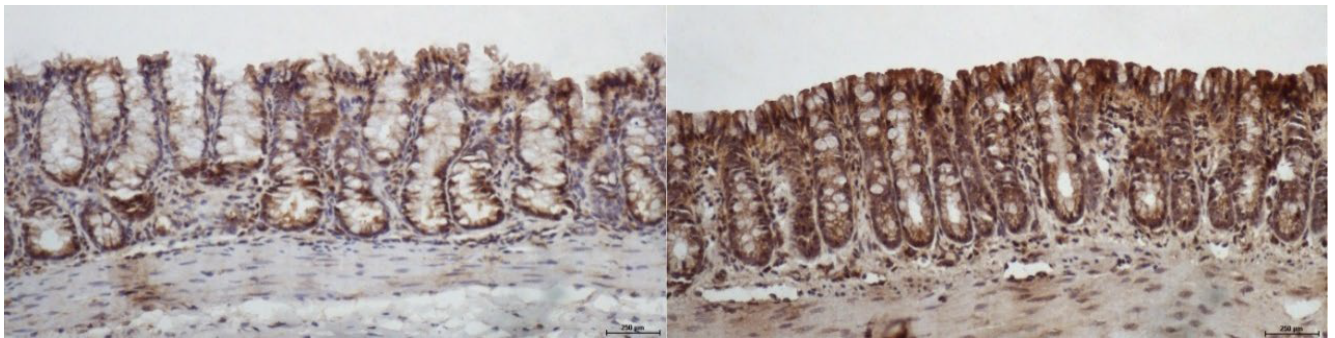


Figura 3 - A) Epitélio colônico sem trânsito fecal de animal submetido a intervenção com SF 0,9% por quatro semanas, com redução da expressão de claudina-3 na superfície epitelial com a formação de úlcera (IH 200x); B) epitélio colônico sem trânsito fecal após intervenção com SCF 2,0 g/kg/dia, por quatro semanas com aumento da expressão da proteína claudina-3 na porção apical das glândulas cólicas (IH 200x).



** = significante: SCF 1,0 g/kg/dia ×SF 0,9% e SCF 2,0 g/kg/dia ×SF 0,9% (p <0.0001); † =significante: SCF 2,0 g/kg/dia ×SCF 1,0 g/kg/dia (p=0.01); †† =significante: SCF 2,0g/Kg/dia ×SCF 1,0 g/kg/dia (p=0.0003); Student t test.

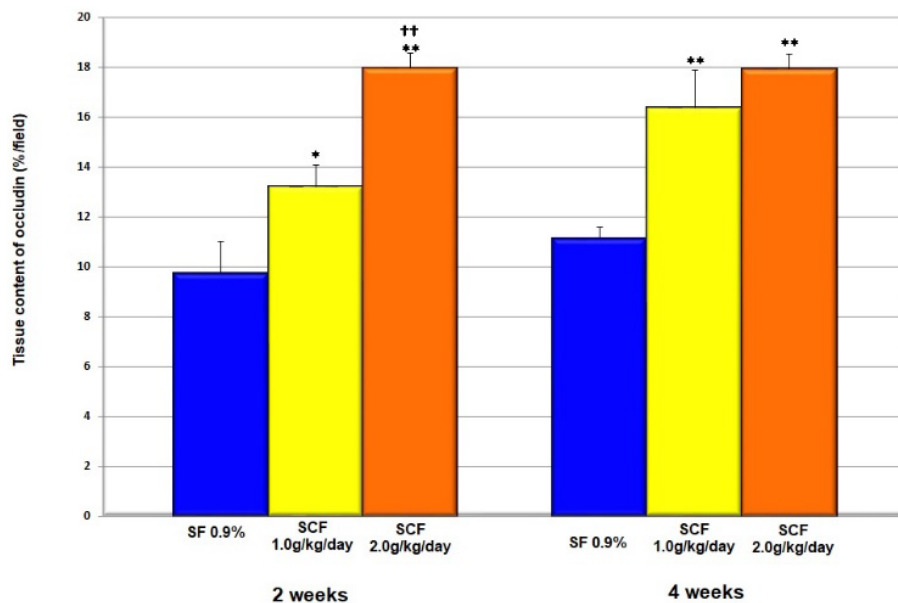
Figura 4 - Valores médios para o conteúdo tecidual de claudina-3 encontrado nos animais submetidos à intervenção com SF 0,9%, SCF 1,0 g/kg/dia e 2,0 g/kg/dia por duas e quatro semanas.



A

B

Figura 5 - A) Epitélio colônico sem trânsito fecal de animal submetido à intervenção com SF 0,9%, por quatro semanas, com perda da expressão da proteína ocludina na superfície epitelial com a formação de várias ulcerações (IH 200x); B) epitélio colônico desprovido de trânsito fecal após intervenção com SCF 2,0 g/kg/dia por quatro semanas com aumento da expressão da proteína ocludina nas porções apical e basolateral das glândulas colônicas (IH 200x).



**=significante: SCF 1,0 g/kg/dia×SF 0,9%, and SCF 2,0 g/kg/dia × SF 0,9% (p<0.0001); ††=significante: SCF 2,0g/kg/dia×SCF 1,0 g/kg/dia (p=0.0003) Student t test.

Figura 6 - Média dos valores teciduais do conteúdo de ocludina encontrado nos animais submetidos à intervenção com SF 0,9%, SCF 1,0 g/kg/dia e 2,0 g/kg/dia por duas e quatro semanas.

occludina aumentou nos animais submetidos a intervenção com SCF independente da concentração ou do tempo de intervenção.

Não houve variação no conteúdo das proteínas claudina-3 e occludina relacionadas ao tempo de intervenção (duas ou quatro semanas), nos animais submetidos à intervenção com SF 0,9%, SCF 1,0 g/kg/dia ou SCF 2,0 g/kg/dia.

DISCUSSÃO

SCF é o sal formado pelo dissacarídeo sacarose octassulfatado associado ao hidróxido de polialumínio^{13,33}. A substância é considerada um agente citoprotetor e foi inicialmente utilizada para prevenir ou tratar doenças do trato digestivo superior, representadas principalmente pela úlcera péptica, úlceras de estresse e erosões agudas da mucosa gástrica^{29,33}. Posteriormente, devido sua grande capacidade de aderir a erosões do epitélio inflamado, o SCF também se mostrou eficaz para o tratamento de pacientes com proctite induzida por radiação e nos doentes com doença inflamatória intestinal, principalmente a retite erosiva distal^{3,10,13,28}. Desde então, uma série de autores publicou os resultados do uso do SCF para o tratamento de diferentes doenças colorretais que evoluem com inflamação, incluindo colite ulcerativa e proctite por radiação^{25,26}. Porém, revisando a literatura, nenhum estudo clínico avaliou a eficácia do SCF em pacientes com CE e, apenas nosso grupo, vem estudando a eficácia do SCF em um modelo experimental de CE^{2,6,18,24}. Esses estudos mostraram que a aplicação diária de enemas com SCF reduzem o infiltrado inflamatório e o dano oxidativo na mucosa colônica desprovida de trânsito fecal, aumentam o conteúdo tecidual de vários tipos de mucinas que recobrem a mucosa, além de melhorar a cicatrização do epitélio colônico inflamado^{2,18,19,24}. Provavelmente, todos esses resultados estão relacionados à capacidade do SCF em estimular a produção de muco pelas células epiteliais da mucosa gastrointestinal, de aumentar a síntese do fator de crescimento epitelial estimulando a cicatrização epitelial e, principalmente, por sua ação antioxidante e anti-inflamatória^{19,29}.

O epitélio colônico atua como uma barreira morfológica e funcional, pois apesar de possuir permeabilidade seletiva garante a proteção contra a invasão de agentes nocivos presentes na luz intestinal^{4,31,32,34}. Isso é alcançado por meio de múltiplos mecanismos de defesa que envolvem vários tipos de células - epiteliais e não epiteliais - que atuam de forma integrada para construir barreiras protetoras nas mucosas^{25,30,31}. Um dos mais importantes mecanismos de defesa é representado pelos sistemas de junções intercelulares, particularmente pelas JOs. Estudos em modelos experimentais de colite induzida e em pacientes com doença inflamatória intestinal têm demonstrado que a quebra das junções intercelulares é um evento precoce na etiopatogenia da doença^{8,11,14}. O estresse oxidativo tem se mostrado um dos principais mecanismos envolvidos na quebra desses sistemas de junção intercelular^{9,12}. Estudos mostraram que essas junções estão comprometidas em diferentes formas de colite e que apenas a deficiência de ácidos graxos de cadeia curta já pode causar ruptura das junções intercelulares³². A integridade das junções intercelulares já foi estudada em modelo experimental de CE^{16,17}. Nestes estudos, foi medido o conteúdo tecidual das principais proteínas que formam as JOs (claudina-3 e occludina) comparando os segmentos do cólon providos e desprovidos de trânsito fecal. Verificou-se que ocorria redução acentuada do conteúdo de ambas as proteínas nas células das glândulas da mucosa cólica desprovida de trânsito intestinal¹⁶. Essa redução mostrou-se mais acentuada no conteúdo de claudina-3, principal proteína que constitui as JOs da mucosa colônica¹⁶. A redução no conteúdo tecidual de ambas as proteínas presentes nas JOs foi inversamente relacionada aos níveis de estresse oxidativo e ao agravamento da inflamação tecidual¹⁶. A aplicação de enemas

contendo substâncias com destacada atividade antioxidantes, como extrato oleoso de curcumina, aumenta o conteúdo tecidual de claudina-3 e occludina na mucosa colônica desprovida de trânsito intestinal¹⁷.

Quando se considera que as espécies reativas de oxigênio podem ocasionar quebra das proteínas presentes nas JOs em modelos experimentais de CE e que o SCF, além de possuir propriedades antioxidantes, pode proteger o epitélio intestinal por aumentar a produção de muco e favorecer a cicatrização epitelial, torna-se interessante avaliar a eficácia da substância na preservação das JOs em um modelo CE^{2,4,5,6,18,24}. Os resultados deste estudo mostram que o conteúdo tecidual de ambas as proteínas aumentou nos segmentos colônicos desprovidos de trânsito fecal submetidos à intervenção com SCF, independente da concentração utilizada e do tempo de intervenção adotado. No entanto, quando o SCF foi usado na concentração de 2,0 g/kg/dia, a manutenção do conteúdo tecidual de ambas as proteínas foi mais significativa. Nesta concentração, a pontuação do escore inflamatório também reduziu significativamente, confirmando as propriedades anti-inflamatórias da substância. Estudos anteriores também mostraram que a intervenção com SCF aumenta o conteúdo tecidual de mucinas neutras, mucinas ácidas totais, sulfomucinas, sialomucinas e MUC-2, relacionada a redução da intensidade inflamatória^{2,4,5,6,18,22,24}. É provável que a ação antioxidante e anti-inflamatória do SCF, demonstrada em estudos anteriores, possa ser o principal mecanismo de proteção das JOs^{2,5}.

Os resultados do presente estudo sugerem que o SCF pode ser uma estratégia terapêutica útil para o tratamento da CE. Por ser um medicamento de baixo custo e boa disponibilidade, é possível que seja utilizado em pacientes com CE, onde não se vislumbra a possibilidade de restabelecimento do trânsito fecal. No entanto, estudos em humanos, com maior número de pacientes e com maior tempo de seguimento ainda são necessários para confirmar essas perspectivas.

CONCLUSÃO

Enemas com SCF reduzem a inflamação e aumentam o conteúdo tecidual de claudina-3 e occludina em segmentos colônicos desprovidos de trânsito fecal em modelo experimental de CD.

REFERENCES

1. Aukoetter MG, Nava P, Nusrat A. Role of the intestinal barrier in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*. 2008;14(3):401-7. doi.org/10.3748/WJG.14.401.
2. Bonassa CE, Pereira JA, Campos FG, Rodrigues MR, Sato DT, Chaim FM, Martinez CA. 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. doi: 10.1590/S0102-865020150050000004.
3. Carling I, Kagevi I, Borvall E. Sucralfate enema (SUC)--effective in IBD? *Endoscopy*. 1986;18(3):115. doi: 10.1055/s-2007-1018347.
4. Castilho TJC, Almeida GHDR, Mello EVSL, Campos ACL. Effect of supplementation with probiotics on colonic anastomoses in rats: morphological and tensiometric study. *Arq Bras Cir Dig*. 2021;33(4):e1550. doi: 10.1590/0102-672020200004e1550.
5. Chaim FM, Sato DT, Rodrigues MR, Dias AM, Silveira Júnior PP, Pereira JA, Martinez CA. Evaluation of the application of enemas containing sucralfate in tissue content of neutral and acid mucins in experimental model of diversion colitis. *Acta Cir Bras*. 2014; 29(9):544-52. doi:10.1590/S0102-8650201400150001.

6. Fernandez OOA, Pereira JA, Campos FG, Araya CM, Marinho GE, Novo RS, Oliveira TS, Franceschi YT, Martinez CAR. Evaluation of enemas containing sucralfate in tissue content of MUC-2 protein in experimental model of diversion colitis. *Arq Bras Cir Dig.* 2018;31(3):e1391. doi. 10.1590/0102-672020180001e1391.
7. Garcia-Hernandez V, Quiros M, Nusrat A. Intestinal epithelial claudins: expression and regulation in homeostasis and inflammation. *Ann N Y Acad Sci.* 2017;1397(1):66-79. doi. 10.1111/nyas.13360.
8. Gassler N, Rohr C, Schneider A, Kartenbeck J, Bach A, Obermüller N, Otto HF, Autschbach F. Inflammatory bowel disease is associated with changes of enterocytic junctions. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2001;281(1):G216-28. doi: 10.1152/ajpgi.2001.281.1.G216.
9. Haidari M, Zhang W, Wakame K. Disruption of endothelial adherens junction by invasive breast cancer cells is mediated by reactive oxygen species and is attenuated by AHCC. *Life Sci.* 2013;93(25-26):994-1003. doi. 10.1016/j.lfs.2013.10.027.
10. Ispas-Szabo P, Friciu MM, Nguyen P, Dumoulin Y, Mateescu MA. Novel self-assembled mesalamine-sucralfate complexes: preparation, characterization, and formulation aspects. *Drug Dev Ind Pharm.* 2016;42(7):1183-93. doi. 10.3109/03639045.2015.1118493.
11. Iwaya H, Maeta K, Hara H, Ishizuka S. Mucosal permeability is an intrinsic factor in susceptibility to dextran sulfate sodium-induced colitis in rats. *Exp Biol Med (Maywood).* 2012;237(4):451-61. doi. 10.1258/ebm.2011.011269.
12. John LJ, Fromm M, Schulzke JD. Epithelial barriers in intestinal inflammation. *Antioxid Redox Signal.* 2011;15(5):1225-70. doi. 10.1089/ars.2011.3892.
13. Kochhar R, Patel F, Dhar A, Sharma SC, Ayyagari S, Aggarwal R, Goenka MK, Gupta BD, Mehta SK. Radiation-induced proctosigmoiditis. Prospective, randomized, double-blind controlled trial of oral sulfasalazine plus rectal steroids versus rectal sucralfate. *Dig Dis Sci.* 1991;36(1):103-7. doi. 10.1007/bf01300096.
14. Kucharzik T, Walsh SV, Chen J, Parkos CA, Nusrat A. Neutrophil transmigration in inflammatory bowel disease is associated with differential expression of epithelial intercellular junction proteins. *Am J Pathol.* 2001;159(6):2001-9. doi. 10.1016/S0002-9440(10)63051-9.
15. Luceri C, Femia AP, Fazi M, Di Martino C, Zolfanelli F, Dolara P, Tonelli F. Effect of butyrate enemas on gene expression profiles and endoscopic/histopathological scores of diverted colorectal mucosa: A randomized trial. *Dig Liver Dis.* 2016;48(1):27-33. doi. 10.1016/j.dld.2015.09.005.
16. Martinez CA, de Campos FG, de Carvalho VR, de Castro Ferreira C, Rodrigues MR, Sato DT, Pereira JA. 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. doi. 10.1007/s10735-015-9610-y.
17. Martinez CA, Kadri CJ, Kanno DT, Alves AJ Júnior, Coy CS, Pereira JA. Claudin-3 and occludin content in the glands of colonic mucosa devoid from fecal stream submitted to topical intervention with oil extract of *Curcuma longa*. *Acta Cir Bras.* 2017;32(1):65-73. doi. 10.1590/s0102-865020170108.
18. Martinez CAR, Rodrigues MR, Sato DT, Silva CMG, Kanno DT, Mendonça RLS, Pereira JA. Evaluation of the anti-inflammatory and antioxidant effects of the sucralfate in diversion colitis. *J. Coloproctol.* 2015;35(2):90-9. <https://doi.org/10.1016/j.jcol.2015.02.007>
19. Masuelli L, Tumino G, Turriziani M, Modesti A, Bei R. Topical use of sucralfate in epithelial wound healing: clinical evidence and molecular mechanisms of action. *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov.* 2010;4(1):25-36. doi. 10.2174/187221310789895649.
20. Matsuu-Matsuyama M, Shichijo K, Okaichi K, Ishii K, Wen CY, Fukuda E, Nakayama T, Nakashima M, Okumura Y, Sekine I. Sucralfate protects intestinal epithelial cells from radiation-induced apoptosis in rats. *J Radiat Res.* 2006;47(1):1-8. doi. 10.1269/jrr.47.1.
21. Nassri CGG, Nassri AB, Favero E, Rotta CM, Martinez CAR, Margarido NF. Influence of irrigation of nutritional solutions in the colon excluded of fecal stream. Experimental study in rats. *Rev Bras Coloproctol.* 2008; 28(3): 306-14. doi.org/10.1590/S0101-98802008000300006.
22. Nonose R, Spadari AP, Priolli DG, Máximo FP, Pereira JA, Martinez CA. 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(4):267-275. doi.org/10.1590/S0102-86502009000400005.
23. Pacheco RG, Esposito CC, Müller LC, Castelo-Branco MT, Quintella LP, Chagas VL, de Souza HS, Schanaider A. Use of butyrate or glutamine in enema solution reduces inflammation and fibrosis in experimental diversion colitis. *World J Gastroenterol.* 2012;18(32):4278-87. doi.org/10.3748/wjg.v18.i32.4278
24. Pereira JA, Rodrigues MR, Sato DT, Silveira Júnior PP, Dias AM, Silva CMG, Martinez, CAR. Evaluation of sucralfate enema in experimental diversion colitis. *J. Coloproctol.* 2013; 33(4):182-90. doi.org/10.1016/j.jcol.2013.08.005
25. Porouhan P, Farshchian N, Dayani M. Management of radiation-induced proctitis. *J Family Prim Med Care.* 2019; 8(7):2173-2178. doi. 10.4103/jfmpc.jfmpc_333_19.
26. Riley SA, Gupta I, Mani V. A comparison of sucralfate and prednisolone enemas in the treatment of active distal ulcerative colitis. *Scand J Gastroenterol.* 1989;24(8):1014-8. doi. 10.3109/00365528909089249.
27. Saitou M, Furuse M, Sasaki H, Schulzke JD, Fromm M, Takano H, Noda T, Tsukita S. Complex phenotype of mice lacking occludin, a component of tight junction strands. *Mol Biol Cell.* 2000;11(12):4131-42. doi: 10.1091/mbc.11.12.4131.
28. Sarin A, Safar B. Management of radiation proctitis. *Gastroenterol Clin North Am.* 2013;42(4):913-25. doi.org/10.1016/j.gtc.2013.08.004
29. Slomiany BL, Piotrowski J, Okazaki K, Grzelinska E, Slomiany A. Nature of the enhancement of the protective qualities of gastric mucus by sucralfate. *Digestion.* 1989; 44(4): 222-231. doi. org/10.1159/000199915
30. Sousa, MV, Priolli DG, Portes AV, Cardinali IA, Pereira JA, Martinez CA. 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(5):417-24. doi. 10.1590/S0102-86502008000500005.
31. Thoo L, Noti M, Krebs P. Keep calm: the intestinal barrier at the interface of peace and war. *Cell Death Dis.* 2019;10(11):849. doi. org/10.1038/s41419-019-2086-z
32. Vivinus-Nébot M, Frin-Mathy G, Bziouche H, Dainese R, Bernard G, Anty R, Filippi J, Saint-Paul MC, Tulic MK, Verhasselt V, Hébuterne X, Piche T. Functional bowel symptoms in quiescent inflammatory bowel diseases: role of epithelial barrier disruption and low-grade inflammation. *Gut.* 2014;63(5):744-52. doi.org/10.1136/gutjnl-2012-304066.
33. Volkin DB, Verticelli AM, Marfia KE, Burke CJ, Mach H, Middaugh CR. Sucralfate, and soluble sucrose octasulfate bind and stabilize acidic fibroblast growth factor. *Biochim Biophys Acta.* 1993; 1203(1):18-26. doi.org/10.1016/0167-4838(93)90031-l.
34. Zihni C, Mills C, Matter K, Balda MS. Tight junctions: from simple barriers to multifunctional molecular gates. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2016;17(9):564-80. doi.org/10.1038/nrm.2016.80.
35. Zundler S, Dietz L, Matzel KE, Geppert CI, Becker E, Rath T, Neurath MF, Atreya R. Successful Long-term Treatment of diversion colitis with topical coconut oil application. *Am J Gastroenterol.* 2018;113(12):1908-10. doi.org/10.1038/s41395-018-0394-z