



Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

Faculdade De Medicina

Leticia Patrocinio de Oliveira

**Comparação da produção de Ácidos Graxos de Cadeia Curta
entre pacientes com Doença Inflamatória Intestinal e
indivíduos saudáveis**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina,
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,
Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre(a)
em Fisiopatologia em Clínica Médica

Orientadora: Profa. Dra. Lígia Yukie Sasaki

Coorientadora: Profa. Dra. Ana Elisa Valencise

Coorientador: Prof. Assoc. Fernando Gomes Romeiro

Botucatu

2022

Leticia Patrocínio de Oliveira

**COMPARAÇÃO DA PRODUÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA ENTRE
PACIENTES COM DOENÇA INFLAMATÓRIA INTESTINAL E INDIVÍDUOS
SAUDÁVEIS**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina,
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,
Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de
Mestre(a) em Fisiopatologia em Clínica Médica

Orientadora: Profa. Dra. Ligia Yukie Sasaki

Coorientadora: Profa. Dra. Ana Elisa Valencise

Coorientador: Prof. Assoc. Fernando Gomes Romeiro

Botucatu

2022

O48c

Oliveira, Leticia Patrocinio de

Comparação da produção de Ácidos Graxos de Cadeia Curta entre pacientes com Doença Inflamatória Intestinal e indivíduos saudáveis / Leticia Patrocinio de Oliveira. -- Botucatu, 2022

65 p. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Medicina, Botucatu

Orientadora: Lígia Yukie Sasaki

Coorientadora: Ana Elisa Valencise

1. Ácidos Graxos de Cadeia Curta. 2. Doença Inflamatória Intestinal. 3. Disbiose. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Medicina, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

BANCA EXAMINADORA

Ligia Yukie Sasaki (orientadora)

Faculdade de Medicina de Botucatu

Departamento de Clínica Médica

Daniela Salate Biagioni Vulcano

Hospital das Clínica da Faculdade de Medicina de Botucatu

Gerência do Serviço Técnico de Nutrição e Dietética

Jaqueline Ribeiro de Barros

Clínica Cliged, Macaé-RJ

Botucatu, 22 de dezembro de 2022

Dedicatória

Dedico este trabalho a minha antiga eu, aquela que almejou este título e planejou cada passo desta caminhada antes mesmo dela iniciar.

Minha melhor e pior amiga nos últimos anos, e que precisou se reinventar e se redescobrir com as novas etapas e desafios do início de carreira, estudante, mulher e mãe solo.

Dedico também a minha nova eu, que busca todos os dias se encontrar e dar o seu melhor em tudo que faz.

“Às vezes precisamos abandonar a vida que havíamos planejado porque já não somos mais a mesma pessoa que fez aqueles planos .”

Agradecimientos

Agradeço, primeiramente, a Deus, por mais esta realização e oportunidade.

Agradeço a minha família, pelos incentivos para concluir mais esta etapa, especialmente à minha mãe Angela pelo apoio e motivação.

A Prof. Dra. Lígia que durante tempos tão difíceis de pandemia e muitas barreiras que só tornavam este objetivo mais distante não me deixou desistir, me mostrou que era possível concluir este trabalho, sempre com muita compreensão e empatia, serei eternamente grata.

A minha filha Lis por ser o combustível para minha evolução, e me mostrar todos os dias que não há limites quando se há disposição, e que todo esforço será recompensado.

Agradeço pelas importantes contribuições de Eloísa Paschoalinotte, Ana Elisa Valencise e Ryan Nunes Yoshio, sem vocês este trabalho não seria possível.

“O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001”.

Resumo

Comparação da Produção de ácidos graxos de cadeia curta entre pacientes com Doença Inflamatória Intestinal e indivíduos saudáveis. Botucatu (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Medicina de Botucatu; 2022.

A Doença Inflamatória Intestinal (DII) compreende duas principais doenças, a doença de Crohn (DC) e a Retocolite Ulcerativa (RCU), essas doenças caracterizadas pela complexa interação entre fatores genéticos, imunológicos, microbianos e ambientais. A microbiota intestinal refere-se a variedade de microrganismos vivos que colonizam o intestino, e devido a inflamação característica da doença observa-se alterações na microbiota intestinal. Uma das principais funções da microbiota intestinal é a produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCCs), e devido a estas alterações acredita-se que por consequência haja alterações no perfil de AGCCs nos indivíduos portadores de DII. O presente estudo teve como objetivo avaliar e comparar o perfil dos AGCCs em pacientes com DII e indivíduos saudáveis, entre DC e RCU e atividade e remissão das doenças.

Foram analisados parâmetros sociodemográficos, clínicos e endoscópicos de indivíduos com DII e comparados com indivíduos saudáveis, entre DC e RCU, entre atividade e remissão da doença clínica e endoscópica. As dosagens de ácidos butírico, propiônico, acético e calprotectina foram obtidas através de amostras fecais. Os indivíduos com DII apresentaram valores significativamente maiores de AGCC que os saudáveis. Tais achados podem ser explicados pelas alterações da microbiota destes pacientes, diferença no perfil de produção e absorção dos AGCCs, pelo grau de atividade da doença e influência da dieta. Os achados deste estudo reforçam a diferença entre a microbiota dos pacientes com DII e indivíduos saudáveis, mas ainda se faz necessário o aprofundamento destas análises para elucidar as principais etapas que diferenciam a produção e absorção destes compostos.

Estudos sobre alterações nas comunidades bacterianas em pacientes com DII são cada vez mais presentes, entretanto, ainda são poucos os estudos que avaliaram o perfil de produção, absorção e excreção de AGCCs nos portadores de DII, sendo necessário aumentar o conhecimento sobre a relação entre microbiota e a produção dos AGCCs nestes pacientes possibilitando compreender suas diferenças e nortear o desenvolvimento de novos alvos de tratamento no futuro.

Palavra-chave: Ácidos Graxos de Cadeia Curta; Doença Inflamatória Intestinal; Disbiose.

Comparison of production of short chain fatty acids between patients with Inflammatory Bowel Disease and healthy individuals. Botucatu (SP): Paulista State University (Unesp), Faculty of Medicine of Botucatu; 2022.

Inflammatory Bowel Disease (IBD) comprises two main diseases, Crohn's disease (CD) and Ulcerative Colitis (UC), these diseases are characterized by the complex interaction between genetic, immunological, microbial and environmental factors. The intestinal microbiota refers to the variety of living microorganisms that colonize the intestine, and due to the inflammation characteristic of the disease, changes in the intestinal microbiota are observed. One of the main functions of the intestinal microbiota is the production of short-chain fatty acids (SCFAs), and due to these changes, it is believed that consequently there are changes in the profile of AGCCs in individuals with IBD. The present study aimed to evaluate and compare the profile of SCFAs in patients with IBD and healthy individuals, between CD and UC and disease activity and remission.

Sociodemographic, clinical and endoscopic parameters of individuals with IBD were analyzed and compared with healthy individuals, between CD and UC, between clinical and endoscopic disease activity and remission. The dosages of butyric, propionic, acetic and calprotectin acids were obtained through fecal samples. Individuals with IBD had significantly higher SCFA values than healthy ones. Such findings can be explained by changes in the microbiota of these patients, difference in the profile of production and absorption of SCFAs, by the degree of disease activity and influence of diet. The findings of this study reinforce the difference between the microbiota of patients with IBD and healthy individuals, but it is still necessary to deepen these analyzes to elucidate the main steps that differentiate the production and absorption of these compounds.

Studies on changes in bacterial communities in patients with IBD are increasingly present, however, there are still few studies that have evaluated the profile of production, absorption and excretion of SCFAs in IBD patients, making it necessary to increase knowledge about the relationship between microbiota and the production of AGCCs in these patients, making it possible to understand their differences and guide the development of new treatment targets in the future.

Keyword: Short Chain Fatty Acids; Inflammatory Bowel Disease; Dysbiosis.

Lista de Tabelas e Ilustrações

Tabela 1. Índice de Mayo para pacientes com RCU.....	26
Tabela 2. Análise comparativa das características sociodemográficas entre os grupos paciente e controle.....	32
Tabela 3. Características clínicas e laboratoriais do grupo paciente.....	33
Tabela 4. Concentrações de ácido acético, propiônico, butírico e a soma dos AGCCs entre os grupos paciente e controle.....	34
Tabela 5. Análise comparativa das características sociodemográficas entre DC e RCU.....	35
Tabela 6. Análise comparativa das características clínicas entre DC e RCU.....	36
Tabela 7. Concentrações de ácido acético, propiônico, butírico e a soma dos AGCC entre os pacientes com doença de Crohn e retocolite ulcerativa.....	38
Tabela 8. Análise comparativa entre os dados sociodemográficos entre os pacientes em atividade e remissão clínica.....	38
Tabela 9. Análise comparativa das características clínicas entre os pacientes em atividade e remissão clínica.....	40
Tabela 10. Concentrações de ácido acético, propiônico, butírico e a soma dos AGCCs entre os pacientes em atividade ou remissão clínica.....	41
Tabela 11. Análise comparativa entre os dados sociodemográficos entre os pacientes em atividade e remissão endoscópica.....	42
Tabela 12. Análise comparativa das características clínicas entre os pacientes em atividade e remissão endoscópica.....	44
Tabela 13. Concentrações de ácido acético, propiônico, butírico e a soma dos AGCCs entre os pacientes em atividade ou remissão endoscópica.....	45
Figura 1: Fluxograma da seleção de pacientes	32
Figura 2. Processos de produção, absorção e excreção de AGCC	48

Lista de Abreviaturas e Siglas

% - porcentagem

AGCC – Ácido Graxo de Cadeia Curta

AINE – Anti-inflamatórios não esteroides

AMPs - Peptídeos antimicrobianos

AS - Módulo líquido

CG/EM - Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa

CoA – Coenzima A

DC - Doença de Crohn

DII – Doença Inflamatória Intestinal

DM – Diabetes Mellitus

DP – Desvio padrão

EAP - Escritório de Apoio à Pesquisa

Fitofarmatec - Laboratório de Fitomedicamentos, Farmacologia e Biotecnologia

g/dL – Grama por decilitro

GPCRs – Receptores acoplados a proteína G

GPR109a - receptor de proteína G109a

GQD - Gegen Qinlian Decoction

HBI -Índice de Montreal e Harvey–Bradshaw

HDACs - Histonas desacetilases

HIF-1 -Fator induzível por hipóxia 1 alfa

HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana

HS - Módulo gasoso

IBP – Inibidor de Bomba de Prótons

IL- Interleucina

iNOS – anticorpo iNOS

LP – Lâmina Própria

m – Metros

mcg/g – Micrograma por grama

mg – Microgramas

mg/dL – Micrograma por decilitro

min – Minutos

ml – Mililitros

n – numeral

NF- κ B – Fator nuclear kappa B

$^{\circ}$ C – Graus célsius

p – p valor

RCU – Retocolite Ulcerativa

SCFAs - Short-chain fatty acids

SES-CD – Simple endoscopic score for Crohn's disease

SI – Síndrome do Intestino Irritável

SP1 – Fator de transcrição da proteína 1

STAT3 - Transdutor de sinal e ativador da transcrição-3

TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TFs – Fatores de Transcrição

TGI- Trato gastrointestinal

Th – Células T auxiliares

TNBS - trinitrobenzeno sulfônico

TNF- α – Fator de necrose tumoral alfa

μ L – Microlitros

μ M – Micro mols

Sumário

Resumo.....	5
Lista de Tabelas e Abreviações	8
Lista de Abreviaturas e Siglas	10
1. Introdução.....	16
2. Hipótese.....	19
3. Objetivo.....	21
4. Metodologia.....	23
4.1. Tipo de Estudo.....	24
4.2. Seleção de Indivíduos.....	24
4.3. Coleta de Dados e Amostras.....	25
4.3.1 Coleta de Dados Clínicos.....	25
4.3.2 Coleta de Fezes	25
4.4. Instrumentos de Avaliação.....	26
4.4.1 Avaliação da extensão e atividade na Doença Inflamatória Intestinal (Grupo Paciente)	26
4.4.2 Avaliação da produção de AGCCs (Grupo Paciente e Grupo Controle)	28
4.4.3 Avaliação Bioquímica (Grupo Paciente).....	29
4.4.4 Avaliação de Calprotectina Fecal (Grupo Paciente e Grupo Controle)	29
4.5. Análise Estatística.....	30
5. Resultados.....	31
5.1 Análise comparativa entre os grupos paciente e controle	33
5.2 Análise comparativa entre os pacientes com doença de Crohn e Retocolite Ulcerativa	36
5.3 Análise comparativa entre os pacientes em atividade e remissão clínica	39
5.4 Análise comparativa entre os pacientes em atividade e remissão endoscópica	43
6. Discussão.....	46
7. Conclusão.....	51

8.	Referências.....	53
9.	Anexos.....	57
9.1.	Anexo 1. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Grupo Paciente)	58
9.2.	Anexo 2. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Controle)	60
9.3.	Anexo 3. Protocolo de Atendimento – Grupo Paciente	62
9.4.	Anexo 4. Protocolo de Atendimento – Grupo Controle	64
9.5.	Anexo 5. Parecer do Comitê de Ética	65

1. Introdução

As doenças inflamatórias intestinais (DII), são representadas principalmente pela Doença de Crohn (DC) e pela Retocolite Ulcerativa (RCU). A inflamação da RCU se estende proximalmente ao reto e é restrita ao cólon, enquanto a DC pode afetar qualquer segmento do trato gastrointestinal, mas comumente ocorre no íleo terminal e pode ser descontínua (SCHIRMER et al. 2019).

O início da doença e sua evolução são caracterizados por uma complexa interação entre fatores genéticos, imunológicos, microbianos e ambientais, que cursam com dano intestinal progressivo e podem impactar significativamente a qualidade de vida dos pacientes (MAGRO et.al., 2017; TORRES et.al., 2020). O diagnóstico das doenças engloba a história clínica do paciente, as lesões endoscópicas, os exames radiológicos como a enterotomografia e a enterorressonância e a avaliação histopatológica (MAGRO et.al., 2017).

Embora a etiologia e a patogênese da DII não tenham sido totalmente compreendidas até o momento, sabe-se que mais de 160 loci genéticos conferem suscetibilidade aos indivíduos predispostos a partir de uma resposta imune anormal aos antígenos intestinais após a exposição a gatilhos ambientais, como a disbiose intestinal, considerada um fator ambiental imediato ao desenvolvimento e manutenção da DII (KAPLAN, 2015).

A disbiose consiste em um estado mal adaptativo do microbioma por haver desequilíbrio entre o número de bactérias protetoras e agressoras, tornando o trato gastrointestinal mais vulnerável (PEREIRA IG e FERRAZ IAR, 2017; SIDHU M e VAN DER OORTEN D, 2017). Há uma relação direta da disbiose intestinal com a redução da microbiota e destruição da barreira de proteção intestinal, causada pelo desequilíbrio das bactérias intestinais, que por sua vez aumentam a permeabilidade de moléculas ou microorganismos patógenos na circulação sistêmica, podendo levar à danos na barreira física do intestino e aparecimento das DII (ALMEIDA et al., 2009).

A microbiota intestinal refere-se a variedade de micro-organismos vivos, principalmente bactérias anaeróbias, que colonizam o intestino logo após o nascimento, com uma relação de aspecto benéfico entre o hospedeiro e a microbiota intestinal, sendo fundamental o equilíbrio que favoreça as duas partes. Uma das principais funções da microbiota é a produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCCs). Os AGCCs são ácidos carboxílicos com cadeias alifáticas de 1 a 6 carbonos, dos quais acetato, propionato e butirato são os mais abundantes produzidos pela fermentação anaeróbica de fibras alimentares no intestino. Sua produção e absorção ocorre por diferentes vias e mecanismos, sendo a maior parte diretamente absorvida no cólon para ser utilizado como fonte de energia para os colonócitos ou transportada para a corrente sanguínea para outros tecidos do organismo, aumentam a função de barreira das células epiteliais, promovendo menor entrada de patógenos na mucosa intestinal (URANGA et al., 2016; KIM et al., 2014; ZAPOLSKA-DOWNAR et al., 2004). Além disso, os AGCCs são importantes para a ativação de fatores de transcrição

para a modulação da expressão gênica, atuam na diferenciação, maturação e ativação de células, modulam diferentes processos do trato gastrointestinal, como a liberação de hormônios e absorção de eletrólitos e água, atuam em algumas células da resposta imune, podendo prevenir e suprimir a inflamação, além de serem responsáveis pelo aumento da produção de citocinas anti-inflamatórias devido a ação em células dendríticas (KIM et al., 2014; LERNER et al., 2011; MEIJER et al., 2010; BINDER and MEHTA, 1989).

Embora os mecanismos exatos dos AGCCs envolvidos na DII ainda não estejam totalmente esclarecidos, Simeoli et al., (2017) mostraram em modelos experimentais com ratos que esses compostos moleculares melhoraram a inflamação e mantem a integridade da barreira do epitélio. Zhao et al., (2018) descobriram que o butirato de sódio pode retardar a colite induzida por ácido 2, 4, 6-trinitrobenzeno sulfônico (TNBS) em camundongos, protegendo a função da barreira intestinal e propuseram que a DII pode ser direcionada por GPR109a (receptor de proteína G109a). Outra pesquisa descobriu que o ácido butírico oral também pode regular a diferenciação de células T em ratos. Pode regular a concentração de IL-10 e IL-12 no plasma e na mucosa do cólon, mas regular negativamente a expressão de IL-17, de modo a aumentar o conteúdo de células Treg e inibir a produção de Th17, o que melhora ainda mais a integridade da mucosa e retarda as lesões de DII (ZHANG MM, 2016). Breuer et al. (1997) e James et al. (2015) observaram efeitos benéficos no tratamento de pacientes com DII pela administração direta de AGCCs ou uso de prebióticos que poderiam produzir AGCCs. Além da ingestão direta de AGCCs, a alimentação de leitões com Gegen Qinlian Decoction (GQD), uma fórmula bem documentada utilizada na Medicina Tradicional Chinesa, também pode ajudar a reduzir a resposta imune inflamatória da mucosa intestinal, manter a saúde da barreira imune do intestino e reduzir os sintomas de DII induzindo a produção de AGCCs (LIU CS, 2019).

Estudos sobre alterações nas comunidades bacterianas em pacientes com DII são cada vez mais presentes, entretanto, ainda são poucos os estudos que avaliaram o perfil de produção de AGCCs nesses pacientes. Sabendo da importância dos AGCCs na modulação e funcionamento da microbiota intestinal, mostra-se necessária a análise do perfil de produção de AGCCs em pacientes com DII possibilitando maior conhecimento sobre o papel da microbiota na atividade inflamatória, a relação entre a microbiota e a produção dos AGCCs no perfil inflamatório dos portadores de DII, além de nortear terapias nutricionais que auxiliem na modulação da microbiota destes pacientes e desenvolvimento de novos alvos de tratamento no futuro.

2. Hipótesis

- A produção, absorção e excreção de ácidos graxos de cadeia curta é diferente em indivíduos com DII quando comparada a indivíduos saudáveis
- A produção, absorção e excreção de ácidos graxos de cadeia curta é diferente entre indivíduos com Doença de Crohn quando comparados com Retocolite
- A produção, absorção e excreção de ácidos graxos de cadeia curta é diferente entre indivíduos portadores de DII em atividade ou remissão de doença
- Os valores de ácidos graxos de cadeia curta nas fezes de indivíduos com DII são menores quando comparadas com indivíduos saudáveis

3. Objetivos

- Avaliar e comparar o perfil dos AGCCs em pacientes com DII e indivíduos saudáveis;
- Avaliar e comparar o perfil dos AGCCs entre portadores de DC e RCU;
- Avaliar e comparar o perfil dos AGCCs entre portadores de DII em atividade ou remissão de doença.

4. Metodologia

4.1 Tipo de Estudo

Trata-se de estudo transversal, observacional, realizado no Ambulatório de Doenças Inflamatórias Intestinais do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu/UNESP com duração de 36 meses. O presente estudo é um subprojeto do projeto temático “DOENÇA INFLAMATÓRIA INTESTINAL (DII): Novas abordagens de diagnóstico e modulação da microbiota intestinal em pacientes com retocolite ulcerativa”, que foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa sobre o número 2.206.346 no dia 08/07/2017. Todos os participantes foram esclarecidos sobre o estudo, seus objetivos e resultados esperados, e assinaram Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) contidos no anexo 1 e 2.

4.2 Seleção de Indivíduos

Foram convidados a compor o grupo paciente, os indivíduos com retocolite ulcerativa (RCU) ou doença de Crohn (DC) atendidos no Ambulatório de Doenças Inflamatórias Intestinais do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu que já tinham diagnóstico de sua doença confirmado por meio de parâmetros clínicos, endoscópicos e histológicos e que estavam em acompanhamento no respectivo ambulatório. O número amostral foi determinado por conveniência para o grupo paciente segundo os atendimentos do ambulatório e adequações aos critérios de inclusão.

Os critérios de inclusão e exclusão do grupo paciente estão descritos a seguir:

Grupo Paciente

Critérios de Inclusão

- Pacientes com diagnóstico confirmado de RCU e DC, documentado com dados clínicos, endoscópicos e histológicos;
- Indivíduos adultos, a partir de 18 anos, de ambos os sexos.

Critérios de Exclusão

- Pacientes portadores de doenças crônicas como: infecção por HIV, diabetes méltus (DM), tuberculose, câncer, insuficiência cardíaca, hepática ou renal e/ou doenças autoimunes;
- Uso de antibióticos nas últimas 4 semanas;
- Uso de prebióticos, probióticos ou simbióticos nas últimas 4 semanas.

Foram convidados a compor o grupo controle, indivíduos saudáveis, sem doenças preexites que atendessem aos critérios de inclusão, residentes na cidade de Botucatu ou região. O tamanho amostral foi realizado através do pareamento com o grupo paciente segundo sexo, idade e etnia.

Os critérios de inclusão e exclusão do grupo controle estão descritos a seguir:

Grupo controle

Critérios de inclusão

- Indivíduos saudáveis;
- Indivíduos adultos, a partir de 18 anos, de ambos os sexos;

Critérios de exclusão

- Gestantes e nutrizes;
- Indivíduos portadores de doenças crônicas como: infecção por HIV, Diabetes Mellitus, tuberculose, câncer, insuficiência cardíaca, hepática ou renal e/ou doenças autoimunes ou outras doenças que pudessem interferir nos resultados da pesquisa;
- Presença de queixas gastrointestinais como distensão abdominal, empachamento, alteração do hábito intestinal, distúrbios funcionais do cólon, antecedente de tumor de cólon ou outros tumores de trato gastrointestinal (TGI); “colites”; doença celíaca; Síndrome do Intestino Irritável (SII); Intolerância à Lactose;
- Uso de antibióticos nas últimas 4 semanas;
- Uso de prebióticos, probióticos ou simbióticos nas últimas 4 semanas;
- Resultado da amostra de fezes com valor de calprotectina fecal acima de 50 mcg/g fezes.

4.3 Coleta dos dados e amostras

4.3.1 Coleta de dados clínicos (Grupo Paciente e Grupo controle)

Para o grupo paciente foram coletadas informações como idade, sexo, raça-etnia, tabagismo, etilismo, escolaridade, atividade física, antecedentes familiares, via de parto, tempo de amamentação, uso de antibióticos na infância, tempo de doença, uso de medicações, através dos prontuários médicos e entrevistas durante as consultas do ambulatório de DII do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu, utilizando um questionário avaliação (anexo 3). Para o grupo controle foram coletados apenas informações como idade, sexo, raça-etnia e telefone para contato, através de uma breve entrevista (anexo 4). Não foi possível a coleta de dados laboratoriais deste grupo.

4.3.2 Coleta de Fezes (Grupo Paciente e Grupo Controle)

Para o grupo paciente as amostras de fezes foram coletadas nas consultas de rotina, para o grupo controle após o aceite de participação a coleta era realizada diretamente no domicílio dos participantes ou entregues ao entrevistador. As amostras foram identificadas e

armazenadas no Laboratório de Fitomedicamentos, Farmacologia e Biotecnologia (Fitofarmatec), no Ultra freezer à temperatura de -80° C até o momento da análise.

4.4 Instrumentos de avaliação

4.4.1 Avaliação da extensão e atividade na Doença Inflamatória Intestinal (Grupo Paciente)

Para calcular a atividade da DII no grupo paciente, foram utilizados para os portadores de retocolite ulcerativa o índice Clínico de Mayo, e para os portadores da doença de Crohn o índice de Montreal e Harvey–Bradshaw (HBI).

O índice de Mayo inclui avaliação clínica composta de avaliação endoscópica, e índice de avaliação global, amplamente usado em ensaios clínicos (WALSH et al., 2014). As pontuações variam de 0 a 12 pontos (doença não ativa até atividade grave) (D’HAENS et al., 2007; RUTGEERTS et al., 2005). Sub-pontuações que englobam a avaliação de sangramento retal, frequência de fezes e avaliação global do médico, ou o sub-escore de endoscopia, também são usados em ensaios clínicos para registrar uma pontuação parcial do escore de Mayo (Tabela 1). Para o estudo foram considerados a pontuação do escore parcial de Mayo (excluindo-se o sub-escore endoscópico) e a pontuação do escore total de Mayo (considerando o sub-escore endoscópico). Os pacientes foram classificados em doença em remissão, atividade leve, moderada ou grave.

Tabela 1. Índice de Mayo para pacientes com RCU.

Frequência de evacuação	Escore
Não normal	0
1 a 2 vezes mais que o normal	1
3 a 4 vezes mais que o normal	2
5 ou mais vezes mais que o normal	3
Sangramento retal	
Sem presença de sangue	0
Presença leve de sangue nas fezes em menos da metade das vezes que evacua	1
Presença moderada de sangue nas fezes na maioria das vezes que evacua	2
Presença intensa de sangue nas fezes ao evacuar	3
Avaliação por endoscopia	
Normal ou doença inativa	0
Doença leve	1
Doença moderada	2
Doença severa	3

Avaliação clínica da doença/Estado geral do paciente

Normal	0
Leve	1
Moderada	2
Severa	3

Sistema de pontuação do escore de Mayo para avaliação da atividade da retocolite ulcerativa, adaptado de Rutgeerts et al., (2005).

A classificação de Montreal subdivide a doença de Crohn de acordo com as três características fenotípicas principais: idade ao diagnóstico (A, de "age"), localização topográfica (L, de "location") e comportamento clínico (B, de "behavior"). O parâmetro idade considera o momento em que o diagnóstico foi definitivamente estabelecido. Há três possibilidades: antes dos 16 anos (A1), entre 17 e 40 anos (A2) ou acima dos 40 anos (A3). A localização é definida como o local de maior extensão anatômica da doença em qualquer período. Existem quatro possibilidades: íleo terminal (L1, doença limitada ao terço inferior do intestino delgado, com ou sem o envolvimento do ceco), cólon (L2, qualquer local entre o ceco e o reto, sem envolvimento do trato digestivo superior), ileocólica (L3, doença do íleo terminal e em qualquer lugar entre o cólon ascendente e o reto) e do trato gastrointestinal superior (L4, qualquer localização superior ao íleo terminal, exceto boca). Se houver comprometimento proximal (L4) e distal (L1 a L3) concomitantemente, a categoria L4 deve ser adicionada como um modificador; se a doença distal não é encontrada, L4 permanece considerada de forma exclusiva. O comportamento clínico é classificado como não estenosante e não penetrante (B1), estenosante (B2) e penetrante (B3). Doença não penetrante, não estenosante é definida pela presença de inflamação, sem evidência de estenose ou fistula. Doença estenosante é definida pela ocorrência de estreitamento do lúmen. Doença penetrante é definida pela ocorrência de fístulas abdominais ou massas inflamatórias e/ou abscesso em qualquer período de evolução da doença. Quando há doença perianal, essa deve ser indicada separadamente pela presença de um marcador, que deve ser adicionada às categorias B1, B2 e B3 (SILVERBERG, 2005).

O HBI é um índice numérico da atividade da doença de Crohn que exige exame físico limitado para massa abdominal e memória do paciente do dia anterior (HARVEY; BRADSHAW, 1980; SPAGNUOLO et al., 2019). Ele é composto por cinco parâmetros: bem-estar geral (0 = muito bem, 1 = ligeiramente ruim, 2 = ruim, 3 = muito ruim, 4 = terrível), dor abdominal (nenhuma = 0, leve = 1, moderada = 2, severa = 3), número de evacuações líquidas por dia, presença de massa abdominal (0 = nenhuma, 1 = duvidosa, 2 = definitiva, 3 = definitivo e mole)

e presença de complicações: artralgia, ulcerações, inflamação, eritema nodoso, pioderma gangrenoso, fissura anal, novas fístulas, abscessos (escore 1 por item) (HARVEY; BRADSHAW, 1980). Pacientes com pontuação de 3 ou menos têm grande probabilidade de estar em remissão, enquanto pacientes com pontuação de 8 a 9 ou mais são considerados portadores de doença grave.

A resposta endoscópica e a remissão endoscópica da doença foram avaliadas através do Simplified Endoscopic Score for Crohn's Disease (SES-CD), um índice simplificado e validado, que avalia a inflamação em todos os segmentos do cólon e íleo terminal. O índice é baseado em quatro variáveis endoscópicas, incluindo o tamanho das úlceras, a extensão da superfície ulcerada, a área atingida e a presença de estenose. Cada variável é classificada em uma pontuação de 0 a 3 em cada segmento avaliado (DAPERNO et al, 2004; FREIRE et al, 2010). Os pacientes foram classificados em atividade e remissão endoscópica.

Os pacientes foram classificados de acordo com a atividade clínica da doença em atividade ou remissão clínica, baseado na pontuação dos escores de Mayo para retocolite ulcerativa e escore HBI para doença de Crohn. Os pacientes foram classificados em atividade ou remissão endoscópica de acordo com o resultado da colonoscopia.

4.4.2 Avaliação do perfil de AGCCs (Grupo Paciente e Grupo controle)

A dosagem de AGCCs (acetato, propionato e butirato) foi realizada através da análise de fezes dos pacientes e dos indivíduos do grupo controle. A análise qualitativa e quantitativa destes três ácidos graxos de cadeia curta foi realizada por técnica de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG/EM) de acordo com a técnica previamente descrita por Zhao et al., 2006 e modificada por García-Villalba et al., 2012.

Preparo de amostras e procedimento de extração de AGCCs: As fezes foram pesadas logo após a coleta; 100mg de fezes foram suspensas em 1ml de ácido fosfórico 0.5% e acondicionadas a -80°C até o momento das extrações. Após descongelamento, as suspensões foram homogeneizadas com vortex por 2 minutos e centrifugadas por 10 minutos a 17949g. 1 ml do sobrenadante foi extraído com 1 ml de acetato de etila por 2 minutos e novamente centrifugadas por 10 minutos a 17949g. Os extratos orgânicos foram novamente estocados a -80°C até o momento das análises. Antes das análises, 600 µL da fase orgânica foram transferidos para um tubo contendo ácido 4-metil-valérico como padrão interno para obter uma concentração final de 500µM. O uso do padrão interno foi necessário para se corrigir variabilidade de injeção de amostras e pequenas alterações da resposta do equipamento.

Análise por GC/MS: O sistema de Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa consiste em um Thermo Scientific, modelo Focus ISQ 230ST (Thermo Scientific), equipado com um amostrador automático triplus Duo, biblioteca NIST 2008 e com duas torres que permite trabalhar em módulo líquido (AS) e módulo gasoso (HS). A injeção foi feita em modo *splitless* com um volume de injeção de 1µL com injetor à temperatura de 250°C. Foi usada uma coluna capilar de sílica fundida TG-WAXHS de 30m x 0.25mm x 0.25µm (Thermo scientific) de acordo com García-Villalba et al., 2012. A temperatura inicial da coluna foi de 90°C com aumento inicial até 150°C a 15°C/min, aumento secundário até 170°C a 20°C/min e aumento terciário até 250°C a 20/min. A identificação dos AGCCs foi baseada no tempo de retenção de amostras padrão e com apoio da biblioteca NIST 08. Curvas padrão com cada um dos ácidos graxos de cadeia curta foram realizadas com diferentes concentrações e a quantificação dos AGCCs foi feita pela determinação de área de cada pico em comparação com o padrão com auxílio do software Xcalibur.

4.4.3 Avaliação bioquímica (Grupo Paciente)

Foram avaliados os resultados dos exames bioquímicos séricos (hematócrito, hemoglobina, e proteína C reativa), para avaliação da atividade inflamatória da doença. Os exames fazem parte do acompanhamento dos pacientes no ambulatório de DII do Hospital de Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP.

4.4.4 Avaliação da Calprotectina Fecal (Grupo Paciente e Grupo controle)

Foram coletadas amostras de fezes de todos os indivíduos do grupo paciente e grupo controle e quantificados os níveis de calprotectina fecal. As amostras foram analisadas pelo método Quantum Blue® Calprotectina Extended, LF-CALE, disponível em kits comerciais e seguiram as normas estabelecidas pelo fornecedor. A calprotectina fecal é um heterodímero ligado a cálcio com grande abundância no citoplasma de neutrófilos e fornece um indicador da gravidade da inflamação intestinal (DHALIWAL et al., 2015). Os valores foram mensurados em microgramas por grama (mcg/g) de fezes. Valores inferiores à 50mcg/g de fezes foram considerados normais. Valores acima de 50 mcg/g de fezes foram considerados como alterados. Os valores de calprotectina fecal no grupo paciente foi usado como parâmetro de presença de atividade inflamatória da doença. Os indivíduos do grupo controle com valores acima de 50mcg/g de fezes foram excluídos do estudo. Os valores de calprotectina fecal do grupo paciente mostram qual o nível de inflamação da doença, valores < 50 mcg/g fezes indicaram remissão da doença. Valores entre 50 e 200 mcg/g inflamação leve, 201 a 500 mcg/g inflamação moderada, e acima de 501 mcg/g inflamação grave.

4.5 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas no Escritório de Apoio à Pesquisa (EAP) da Faculdade de Medicina de Botucatu. Foram realizadas análises descritivas com cálculo de média, desvio padrão, mediana e quartis para as variáveis quantitativas e frequências e porcentagens para as variáveis qualitativas. Para estudar as associações entre as variáveis categóricas foram utilizados os Teste do Qui-Quadrado e Teste Exato de Fisher, e para variáveis contínuas foram utilizados Teste de Mann-Whitney e Teste de Kruskal Wallis, quando adequado. Em todos os testes foram utilizados o nível de significância de 5% ou o p-valor correspondente.

5. Resultados

Foram incluídos no grupo paciente 102 indivíduos, e 8 (7,84%) foram excluídos por não adequação aos critérios de inclusão e/ou falta de dados clínicos. Para composição do grupo controle foram incluídos 90 indivíduos, destes 14 (15,55%) foram excluídos devido à falta de coleta de amostra de fezes, e 13 (14,44%) foram excluídos por alteração da dosagem da calprotectina (>50mcg). Esses indivíduos foram convidados a realizar tratamento com vermífugo e coleta de nova amostra para dosagem da calprotectina fecal. Caso a segunda amostra permaneça alterada, os mesmos serão encaminhados para investigação clínica com especialista.

No total, foram incluídos no estudo 157 indivíduos, sendo 94 no grupo paciente e 63 indivíduos saudáveis no grupo controle, a Figura 1 descreve o fluxograma de seleção do estudo.

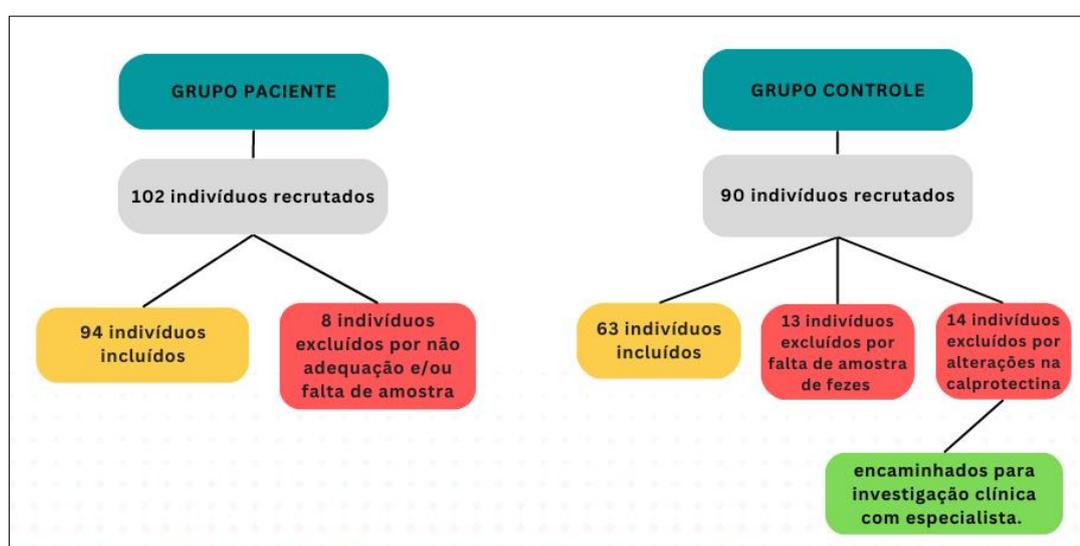


Figura 1: Fluxograma da seleção de pacientes.

5.1. Análise comparativa entre os grupos paciente e controle

O grupo controle foi composto por 63 indivíduos, sendo 68,25% do sexo feminino, 84,13% de etnia branca com idade média de $41,31 \pm 16,12$ anos. O grupo paciente incluiu 94 indivíduos, 60,64% do grupo é do sexo feminino, 84,04% de etnia branca, com idade média de $46,1 \pm 14,46$ anos. Não houve diferença estatística entre sexo, etnia e idade entre os grupos paciente e controle. As características sociodemográficas do grupo paciente e controle são mostradas na Tabela 2.

Tabela 2. Análise comparativa das características sociodemográficas entre os grupos paciente e controle.

	Grupo Paciente (n=94)	Grupo Controle (n=63)	p
Sexo, n (%)			
Feminino	57 (60,64)	43 (68,25)	0,3307
Masculino	37 (39,36)	20 (31,75)	
Etnia, n (%)			

Branca	79 (84,04)	53 (84,13)	0,9887
Não branca	15 (15,96)	10 (15,87)	
Idade (anos), média ± DP	46,1 ± 14,46	41,31 ± 16,12	0,0583

Dados apresentados em média e desvio padrão, frequência e porcentagem

O grupo paciente possui 47,87% dos indivíduos portadores de DC e 52,13% de RCU, o tempo médio de doença é de 10,43 ± 8,33 anos. 60,64% do grupo estava em atividade clínica, 50,68% em atividade histológica e 68,09% em atividade colonoscópica. Outras características clínicas e laboratoriais podem ser observadas na tabela 3.

Tabela 3. Características clínicas e laboratoriais do grupo paciente.

	Grupo Paciente (n=94)
DII, n (%)	
Crohn	45 (47,87)
RCU	49 (52,13)
Tempo de doença (anos), média ± DP	10,43 ± 8,33
Montreal	
Idade ao diagnóstico, n (%)	
A1	4 (8,89)
A2	28 (62,22)
A3	13 (28,89)
Localização, n (%)	
L1	15 (33,33)
L2	10 (22,22)
L3	20 (44,44)
Comportamento, n (%)	
B1	13 (28,89)
B2	15 (33,33)
B3	17 (37,78)
Doença Perianal, n (%)	
Sim	17(37,78)
Não	28 (62,22)
Extensão RCU, n (%)	
Colite Distal	6 (12,24)
Hemicolite Esquerda	12 (24,49)
Pancolite	31 (63,27)
Mayo Endoscópico, n (%)	
0	9 (19,15)
1	10 (21,28)
2	17 (36,17)
3	11 (23,40)
Escore de Mayo Total, pontos ± DP	4,16 ± 3,68
Harvey-Bradshaw, pontos ± DP	2,33 ± 2,26
SES_CD, pontos ± DP	5,20 ± 6,85
Atividade Clínica, n (%)	
Sim	37 (39,36)
Não	57 (60,64)
Atividade Histológica, n (%)	
Sim	37 (50,68)

Não	36 (49,32)
Atividade Colonoscópica, n (%)	
Sim	64 (68,09)
Não	30 (31,91)
Classificação Atividade, n (%)	
Discreta	24 (25,53)
Moderada	10 (10,64)
Grave	4 (4,26)
Remissão	56(59,57)
Tempo Colono (meses), média ± DP	2,70 ± 2,28
Azatioprina, n (%)	50 (53,19)
Mesalazina, n (%)	20 (21,28)
Prednisona, n (%)	13 (13,83)
Biológico, n (%)	69 (73,40)
Infliximabe, n (%)	22 (23,40)
Adalimumabe, n (%)	43 (45,74)
Certolizumabe, n (%)	1 (1,06)
Vedolizumabe, n (%)	2 (2,13)
Ustequinumabe, n (%)	1 (1,06)
IBP, n (%)	11 (12,09)
AINE, n (%)	2 (2,20)
IMC (kg/m²), média ± DP	26,36 ± 5,21
Hemoglobina (g/dl), média ± DP	13,00 ± 1,83
Hematócrito, n (%)	39,32 ± 4,82
PCR (mg/dl), média ± DP	2,85 ± 8,35
Calprotectina Fecal, média ± DP	667,1 ± 1248,03

Dados apresentados em média e desvio padrão, frequência e porcentagem.

Na tabela 4 estão descritas as dosagens de AGCC no grupo paciente e controle. Houve diferenças significativas nas dosagens entre os grupos. Os valores dos AGCCs foram menores no grupo controle em comparação aos pacientes com DII ($p < 0,0001$).

Tabela 4. Concentrações de ácido acético, propiônico, butírico e a soma dos AGCCs entre os grupos paciente e controle.

	Grupo Paciente (n = 94)	Grupo Controle (n = 63)	p
Ácido Acético, média ± DP	0,32 ± 0,18	0,12 ± 0,11	< 0,0001
Ácido Propiônico, média ± DP	0,24 ± 0,10	0,15 ± 0,09	< 0,0001
Ácido Butírico, média ± DP	0,19 ± 0,11	0,12 ± 0,08	< 0,0001
Soma dos Ácidos, média ± DP	0,75 ± 0,32	0,39 ± 0,25	< 0,0001

Dados apresentados em média e desvio padrão, frequência e porcentagem.

5.2. Análise comparativa entre os pacientes com doença de Crohn e Retocolite ulcerativa

O grupo paciente foi composto por 45 (47,84%) portadores de DC com idade média de 46,1 ± 14,46 anos e 49 (52,13%) portadores RCU com idade média de 41,31 ± 16,12 anos. Entre os portadores de DC, 29 (64,44%) eram do sexo feminino, 40 (88,89%) de etnia branca e com tempo médio de doença de 11,44 ± 8,76 anos. Já entre os portadores de RCU, 28 (57,14%) eram do sexo

feminino, 39 (79,59%) de etnia branca, com tempo médio de doença de 9,51 + 7,91 anos. A tabela 5 mostra os dados sociodemográficos de ambos os grupos.

Tabela 5. Análise comparativa das características sociodemográficas entre DC e RCU.

	DC	RCU	p
	45 (47,87)	49(52,13)	
Sexo, n (%)			
Feminino	29 (64,44)	28 (57,14)	0,4692
Masculino	16 (35,56)	21 (42,86)	
Etnia, n (%)			
Branca	40 (88,89)	39 (79,59)	0,2189
Não branca	5 (11,11)	10 (20,41)	
Idade (anos), média ± DP	47,62 ± 13,03	44,69 ± 15,66	0,3293
Tabagismo, n (%)			
Sim	42 (93,33)	1 (2,04)	0,3510
Não	3 (6,67)	48 (97,96)	
Etilismo, n (%)			
Sim	1 (2,22)	1 (2,04)	1,000
Não	44 (97,78)	48 (97,96)	
Escolaridade, n (%)			
Analfabeto	1 (2,22)	1 (2,04)	
Ensino Fundamental	13 (28,89)	16 (32,65)	0,8111
Ensino Médio	19 (42,22)	22 (44,9)	
Ensino Superior	10 (22,22)	7 (14,28)	
Não respondeu	2 (4,44)	3 (6,12)	
Atividade Física, n (%)			
Sim	2 (4,44)	6 (12,24)	0,2002
Não	38 (84,44)	40 (81,64)	
Não respondeu	5 (11,11)	3 (6,12)	
Antecedentes Familiares, n (%)			
Sim	2 (4,44)	2 (4,08)	
Não	39 (86,67)	43 (87,75)	1,000
Não respondeu	4 (8,89)	4 (8,16)	
Via de Parto, n (%)			
Não sabe	3 (6,66)	2 (4,08)	
Normal	10 (22,22)	26 (53,06)	0,2810
Cesárea	3 (6,66)	10 (20,40)	
Não respondeu	29 (64,44)	11 (22,44)	
Amamentação, n (%)			
Não foi amamentado	1 (2,22)	4 (8,16)	
< 6 meses	2 (4,44)	3 (6,12)	
Até 6 meses	4 (8,89)	5 (10,20)	0,7709
>6 meses	2 (4,44)	15 (30,61)	
Não sabe o tempo	4 (8,89)	10 (20,40)	
Não respondeu	32 (71,11)	7 (14,28)	
Uso de Antibiótico na infância, n (%)			
Sim	1 (7,69)	6 (12,25)	
Não	4 (30,77)	16 (32,65)	0,5095
Não sabe	8 (61,54)	17 (34,70)	
Não respondeu		10 (20,40)	

Uso de suplemento, n (%)			
Sim	26 (57,78)	41 (83,68)	
Não	2 (4,44)	4 (8,16)	1,000
Não respondeu	17 (37,78)	4 (8,16)	
Ingestão Hídrica, n (%)			
< 4 copos	6 (13,33)	12 (24,49)	
4 – 8 copos	11 (24,44)	14 (28,57)	0,0146
>8 copos	0 (0)	14 (28,57)	
Não respondeu	28 (62,22)	9 (18,37)	

Dados apresentados em média e desvio padrão, frequência e porcentagem.

Segundo o Score de Montreal 8,89% dos pacientes receberam diagnóstico até os 16 anos (A1), 62,22% entre 17 e 40 anos (A2) e 28,89% acima dos 40 anos (A3). Quanto a localização da doença, 33,33% estão no íleo terminal (L1), 22,22% no cólon (L2) e 44,44% ileocólica (L3). Quanto ao comportamento 28,89% são classificados como não estenosante e não penetrante (B1), 33,33% como estenosante (B2) e 37,78% como penetrante (B3), e cerca de 37,8% possuíam doença perianal. O valor médio do SES-CD foi de 5,20 + 6,85. Segundo a classificação de Harvey–Bradshaw (HBI) a pontuação média dos pacientes é de 2,33 + 2,26, sendo que 15,56% dos pacientes com DC estavam em atividade clínica.

Pelo score de Mayo 17,39% dos pacientes com RCU apresentavam doença em remissão; 21,74% em atividade discreta; 36,96% em atividade moderada e 23,91% em atividade grave. Quanto a localização da doença, 12,24% possuíam colite distal, 24,49% hemicolite esquerda e 63,27% com pancolite. Cerca de 61,22% dos pacientes com RCU estavam em atividade clínica.

Foi observado que 34,62% dos pacientes com DC estavam em atividade histológica, onde 17,78% possuíam atividade discreta e 82,22% remissão. Os pacientes com RCU 59,57% estavam em atividade histológica, sendo 32,65% em atividade discreta, 20,41% em atividade moderada, 8,16% em atividade grave e 38,78% em remissão.

Pacientes com RCU apresentam maior frequência de atividade clínica, endoscópica e histológica. Os tratamentos com mesalazina, infliximabe, adalimumabe e terapia biológica também apresentaram diferença estatística entre os grupos. Estes e outras características dos subgrupos de DC e RCU podem ser observados na tabela 6.

Tabela 6. Análise comparativa das características clínicas entre DC e RCU.

	DC (n= 45)	RCU (n= 49)	p
Tempo de doença (anos), média ± DP	11,44 ± 8,76	9,51 ± 7,91	0,2959
Montreal			
Idade ao diagnóstico, n (%)			
A1	4 (8,89)		
A2	28 (62,22)		
A3	13 (28,89)		
Localização, n (%)			

L1	15 (33,33)		
L2	10 (22,22)		
L3	20 (44,44)		
Comportamento, n (%)			
B1	13 (28,89)		
B2	15 (33,33)		
B3	17 (37,78)		
Doença Perianal, n (%)			
Sim	17 (37,78)		
Não	28 (62,22)		
Extensão RCU, n (%)			
Colite Distal		6 (12,24)	
Hemicolite Esquerda		12 (24,49)	
Pancolite		31 (63,27)	
Mayo Endoscópico, n (%)			
0		8 (17,39)	
1		10 (21,74)	
2		17 (36,96)	
3		11 (23,91)	
Score de Mayo Total		4,16 ± 3,68	
Harvey-Bradshaw, pontos ± DP	2,33 ± 2,26		
SES_CD, pontos ± DP	5,20 ± 6,85		
Atividade Clínica, n (%)			
Sim	7 (15,56)	30 (61,22)	<0,0001
Não	38 (84,44)	19 (38,78)	
Atividade Histológica, n (%)			
Sim	9 (34,62)	28 (59,57)	0,0411
Não	17 (65,38)	19 (40,43)	
Atividade Colono, n (%)			
Sim	23 (51,11)	41 (83,67)	0,0007
Não	22 (48,89)	8 (16,33)	
Classificação Atividade, n (%)			
Discreta	8 (17,78)	16 (32,65)	
Moderada	0 (0)	10 (20,41)	
Grave	0 (0)	4 (8,16)	<0,0001
Remissão	37 (82,22)	19 (38,78)	
Tempo Colonoscopia (meses), média ± DP	2,54 ± 2,11	2,78 ± 2,39	0,7233
Uso de Azatioprina, n (%)	27 (60)	23 (46,94)	0,2049
Uso de Mesalazina, n (%)	1 (2,22)	19 (38,78)	<0,0001
Uso de Prednisona, n (%)	4 (8,89)	9 (18,37)	0,2377
Uso de Biológico, n (%)	39 (86,67)	30 (61,22)	0,0053
Uso de Infliximabe, n (%)	6 (13,33)	16 (32,65)	0,0271
Uso de Adalimumabe, n (%)	30 (66,67)	13 (26,53)	<0,0001
Uso de Certolizumabe, n (%)	1 (2,22)	0 (0)	0,4787
Uso de Vedolizumabe, n (%)	1 (2,22)	1 (2,04)	1,0000
Uso de Ustequinumabe, n (%)	1 (2,22)	0 (0)	0,4787
Uso de IBP, n (%)	2 (4,65)	9 (18,75)	0,0539
Uso de AINE, n (%)	1 (2,33)	1 (2,08)	1,0000
Hemoglobina (g/dl), média ± DP	12,74 ± 2,00	13,24 ± 1,64	0,2106
Hematócrito, n (%)	38,62 ± 5,07	39,96 ± 4,55	0,2028
PCR (mg/dl), média ± DP	4,08 ± 11,45	1,66 ± 2,97	0,0080
Calprotectina Fecal (mcg/g), média ± DP	351,91 ± 682,28	956,57 ± 1553,2	0,0039

Dados apresentados em média e desvio padrão, frequência e porcentagem.

As dosagens de calprotectina foram diferentes entre os grupos, com valores maiores nos pacientes com RCU ($p=0,0039$), mostrando maior atividade inflamatória nesse grupo (Tabela 6). Houve diferença na dosagem de ácido propiônico entre os subgrupos DC e RCU ($p=0,0103$). Os valores de ácido acético, butírico e a soma dos AGCCs não foram diferentes significativamente conforme mostrado na Tabela 7.

Tabela 7. Concentrações de ácido acético, propiônico, butírico e a soma dos AGCC entre os pacientes com doença de Crohn e retocolite ulcerativa.

	DC (n = 45)	RCU (n = 49)	p
Ácido Acético, média \pm DP	0,32 \pm 0,19	0,32 \pm 0,18	0,9655
Ácido Propiônico, média \pm DP	0,27 \pm 0,11	0,22 \pm 0,09	0,0103
Ácido Butírico, média \pm DP	0,19 \pm 0,11	0,18 \pm 0,10	0,6907
Soma dos Ácidos, média \pm DP	0,78 \pm 0,33	0,72 \pm 0,31	0,3373

Dados apresentados em média e desvio padrão, frequência e porcentagem.

5.3. Análise comparativa entre os pacientes em atividade e remissão clínica.

Dos 57 pacientes que estavam em remissão clínica 33 (57,89%) eram do sexo feminino, 48 (84,21%) de etnia branca e com idade média de 46,82 \pm 14,02 anos. Já entre pacientes em atividade clínica 24 (64,86%) eram do sexo feminino, 31 (83,78%) de etnia branca, com idade média de 44,97 \pm 15,24 anos. Na tabela 8 os dados sociodemográficos podem ser observados segundo a presença de atividade clínica.

Tabela 8. Análise comparativa entre os dados sociodemográficos entre os pacientes em atividade e remissão clínica.

	Remissão Clínica (n = 57)	Atividade Clínica (n = 37)	p
Sexo, n (%)			
Feminino	33 (57,89)	24 (64,86)	0,4992
Masculino	24 (42,11)	13 (35,14)	
Etnia, n (%)			
Branca	48 (84,21)	31 (83,78)	0,9560
Não branca	9 (15,79)	6 (16,22)	
Idade (anos), média \pm DP	46,82 \pm 14,02	44,97 \pm 15,24	0,5470
Tabagismo, n (%)			
Sim	3 (5,26)	1 (2,7)	1,0000
Não	54 (94,74)	36 (97,3)	
Etilismo, n (%)			
Sim	1 (1,75)	1 (2,7)	1,0000
Não	56 (98,25)	36 (97,3)	

Escolaridade, n (%)			
Analfabeto	0 (0)	2 (5,40)	
Ensino Fundamental	15 (26,31)	14 (37,84)	
Ensino Médio	10 (22,63)	11 (29,73)	0,0788
Ensino Superior	10 (17,55)	6 (16,21)	
Não respondeu	2 (3,51)	4 (10,82)	
Atividade Física, n (%)			
Sim	6 (10,53)	2 (5,40)	
Não	47 (82,45)	31 (83,78)	0,7049
Não respondeu	4 (7,02)	4 (10,82)	
Antecedentes Familiares, n (%)			
Sim	2 (3,51)	2 (5,40)	
Não	52 (91,23)	30 (81,09)	0,6262
Não respondeu	3 (5,26)	5 (13,51)	
Via de Parto, n (%)			
Não sabe	3 (5,26)	2 (5,40)	
Normal	19 (33,33)	17 (45,95)	0,8545
Cesárea	6 (10,52)	7 (18,92)	
	9 (15,79)	11 (29,73)	
Amamentação, n (%)			
Não foi amamentado	2 (3,50)	3 (8,11)	
< 6 meses	5 (8,77)	2 (5,40)	
Até 6 meses	1 (1,75)	2 (5,40)	0,7634
>6 meses	9 (39,13)	10 (27,03)	
Não sabe	6 (10,52)	10 (27,03)	
Não respondeu	14 (24,56)	10 (27,03)	
Uso de Antibiótico na infância, n (%)			
Sim	3 (12)	4 (10,81)	
Não	9 (36)	11 (29,73)	0,8580
Não sabe	13 (52)	12 (32,43)	
Não respondeu	12	10 (27,03)	
Uso de suplemento, n (%)			
Sim	39 (68,43)	28 (75,67)	
Não	3 (5,26)	3 (8,11)	0,6943
Não respondeu	15 (26,31)	6 (10,52)	
Ingestão Hídrica, n (%)			
< 4 copos	12 (21,05)	6 (10,52)	0,1750
4 – 8 copos	11 (19,30)	14 (24,56)	
>8 copos	5 (8,77)	9 (15,79)	
Não respondeu	9 (39,13)	8 (14,03)	

Dados apresentados em média e desvio padrão, frequência e porcentagem.

Segundo o Score de Montreal para os pacientes em remissão clínica, 10,53% dos pacientes receberam diagnóstico até os 16 anos (A1), 57,89% entre 17 e 40 anos (A2) e 31,58% acima dos 40 anos (A3). Quanto a localização da doença, 34,21% estão no íleo terminal (L1), 23,68% no cólon (L2) e 42,11% ileocólica (L3). Quanto ao comportamento 26,32% são classificados como não estenosante e não penetrante (B1), 36,84% como estenosante (B2) e 36,84% como penetrante (B3), e cerca de 65,79% possuíam doença perianal. O valor médio do SES-CD foi de $2,42 \pm 3,58$ pontos.

Segundo a classificação de HBI a pontuação média dos pacientes é de $1,61 \pm 1,52$. Para os pacientes em atividade clínica, 85,71% dos pacientes receberam diagnóstico entre 17 e 40 anos (A2) e 14,29% acima dos 40 anos (A3). Quanto a localização da doença, 28,57% estão no íleo terminal (L1), 14,29% no cólon (L2) e 57,14% ileocólica (L3). Quanto ao comportamento 42,86% são classificados como não estenosante e não penetrante (B1), 14,29% como estenosante (B2) e 57,14% como penetrante (B3), e cerca de 42,86% possuíam doença perianal. O valor médio do SES-CD foi de $16,33 \pm 5,03$ pontos. Segundo a classificação de HBI a pontuação média dos pacientes é de $6,29 \pm 1,25$.

Os pacientes com RCU em remissão clínica, 15,79% possuíam colite distal, 15,79% hemicolite esquerda e 68,42% com pancolite. Para pacientes em atividade clínica, 10% possuíam colite distal, 30% hemicolite esquerda e 60% com pancolite.

As variáveis de Mayo endoscópico, escore de mayo, HBI, SES-CD, classificação de atividade, atividade clínica, atividade histológica, atividade colonoscópica apresentaram $p < 0,0001$. Os tratamentos com mesalazina, prednisona e adalimumabe e variáveis laboratoriais de hematócrito e hemoglobina também tiveram diferenças estatísticas (Tabela 9).

Tabela 9. Análise comparativa das características clínicas entre os pacientes em atividade e remissão clínica.

	Remissão Clínica (n = 57)	Atividade Clínica (n = 37)	p
Tempo de doença (anos), média \pm DP	10,87 \pm 9,01	9,65 \pm 7,03	0,5225
Montreal			
Idade ao diagnóstico, n (%)			
A1	4 (10,53)	0 (0)	0,3528
A2	22 (57,89)	6 (85,71)	
A3	12 (31,58)	1 (14,29)	
Localização, n (%)			0,7437
L1	13 (34,21)	2 (28,57)	0,4680
L2	9 (23,68)	1 (14,29)	
L3	16 (42,11)	4 (57,14)	
Comportamento, n (%)			
B1	10 (26,32)	3 (42,86)	0,3986
B2	14 (36,84)	1 (14,29)	
B3	14 (36,84)	3 (42,86)	
Doença Perianal, n (%)			
Sim	25 (65,79)	3 (42,86)	0,4946
Não	13 (34,21)	4 (57,14)	
Extensão RCU, n (%)			
Colite Distal	3 (15,79)	3 (10)	0,4946
Hemicolite Esquerda	3 (15,79)	9 (30)	
Pancolite	13 (68,42)	19 (60)	
Mayo Endoscópico, n (%)			<0,0001
0	8 (42,11)	1 (3,57)	
1	7 (36,84)	3 (10,71)	
2	4 (21,05)	13 (46,43)	

3	0 (0)	11 (39,29)	
Score de Mayo Total, pontos \pm DP	0,95 \pm 0,85	6,20 \pm 3,31	<0,0001
Harvey-Bradshaw, pontos \pm DP	1,61 \pm 1,52	6,29 \pm 1,25	<0,0001
SES_CD, pontos \pm DP	2,42 \pm 3,58	16,33 \pm 5,03	
Atividade Clínica, n (%)	0		<0,0001
Sim	57 (100)	37 (100)	
Não		0 (0)	
Atividade Histológica, n (%)			
Sim	6 (15)	31 (93,94)	<0,0001
Não	34 (85)	2 (6,06)	
Atividade Colonoscópica, n (%)			<0,0001
Sim	28 (49,12)	36 (97,3)	
Não	29 (50,88)	1 (2,7)	
Classificação Atividade, n (%)			
Atividade	1 (1,75)	7 (18,92)	
Discreta	0	16 (43,24)	
Moderada	0	10 (27,03)	<0,0001
Grave	0	4 (10,81)	
Remissão	56 (98,25)	0 (0)	
Tempo Colono (meses) , média \pm DP	2,58 \pm 2,34	2,81 \pm 2,27	0,7161
Uso de Azatioprina, n (%)	29 (50,88)	21 (56,76)	0,5768
Uso de Mesalazina, n (%)	8 (14,04)	12 (32,43)	0,0332
Uso de Prednisona, n (%)	3 (5,26)	10 (27,03)	0,0047
Uso de Biológico, n (%)	46 (80,7)	23 (62,16)	0,0469
Uso de Infliximabe, n (%)	14 (24,56)	8 (21,62)	0,7422
Uso de Adalimumabe, n (%)	31 (54,39)	12 (32,43)	0,0369
Uso de Certolizumabe, n (%)	0 (0)	1 (2,7)	0,3936
Uso de Vedolizumabe, n (%)	0 (0)	2 (5,41)	0,1524
Uso de Ustequinumabe, n (%)	1 (1,15)	0 (0)	1,000
Uso de IBP, n (%)	5 (9,09)	30 (83,33)	0,2784
Uso de AINE, n (%)	0 (0)	2 (5,56)	0,1538
Hemoglobina (g/dl), média \pm DP	13,35 \pm 1,87	12,44 \pm 1,64	0,0241
Hematócrito, n (%)	40,37 \pm 4,90	37,65 \pm 4,26	0,0103
PCR (mg/dl) , média \pm DP	3,19 \pm 10,20	2,28 \pm 3,54	0,2536
Calprotectina Fecal (mcg/g), média \pm DP	224,26 \pm 389,16	1349 \pm 1731,86	<0,0001

Dados apresentados em média e desvio padrão, frequência e porcentagem.

As dosagens de calprotectina foram diferentes entre os pacientes com atividade e remissão clínica ($p < 0,0001$). Houve diferença significativa apenas na dosagem de ácido propiônico ($p = 0,0096$). Os valores de ácido acético, butírico e a soma dos AGCCs não foram diferentes significativamente conforme mostrado na Tabela 10.

Tabela 10. Concentrações de ácido acético, propiônico, butírico e a soma dos AGCCs entre os pacientes em atividade ou remissão clínica.

	Remissão Clínica (n=57)	Atividade Clínica (n=37)	p
Ácido Acético, média \pm DP	0,32 \pm 0,18	0,31 \pm 0,19	0,7373

Ácido Propiônico, média ± DP	0,26 ± 0,11	0,21 ± 0,09	0,0096
Ácido Butírico, média ± DP	0,19 ± 0,10	0,18 ± 0,12	0,5072
Soma dos Ácidos, média ± DP	0,78 ± 0,30	0,70 ± 0,34	0,2189

Dados apresentados em média e desvio padrão, frequência e porcentagem.

5.4. Análise comparativa entre os pacientes em atividade e remissão endoscópica.

Dos 57 pacientes que estavam em remissão endoscópica 16 (53,33%) eram do sexo feminino, 27 (90%) de etnia branca e com idade média de 47,60 ± 11,91 anos. Já entre pacientes em atividade endoscópica, 41 (64,06%) eram do sexo feminino, 52 (81,25%) de etnia branca, com idade média de 45,39 ± 15,55 anos. Na tabela 11 os dados sociodemográficos podem ser observados segundo a presença de atividade endoscópica.

Tabela 11. Análise comparativa entre os dados sociodemográficos entre os pacientes em atividade e remissão endoscópica.

	Remissão Endoscópica (n=30)	Atividade Endoscópica (n=64)	p
Sexo, n (%)			
Feminino	16 (53,33)	41 (64,06)	0,3209
Masculino	14 (46,67)	23 (35,94)	
Etnia, n (%)			
Branca	27 (90)	52 (81,25)	0,3726
Não branca	3 (10)	12 (18,75)	
Idade (anos), média ± DP	47,60 ± 11,91	45,39 ± 15,55	0,4927
Tabagismo, n (%)			
Sim	2 (6,67)	2 (3,12)	0,5920
Não	28 (93,33)	62 (96,87)	
Etilismo, n (%)			
Sim	0 (0)	2 (3,12)	1,0000
Não	30 (100)	62 (96,87)	
Escolaridade, n (%)			
Não soube responder	0	5 (7,83)	
Analfabeto	7 (23,33)	2 (3,12)	
Ensino Fundamental	15 (50)	22 (34,37)	0,2941
Ensino Médio	8 (26,67)	26 (40,62)	
Ensino Superior	0 (0)	9 (14,06)	
Atividade Física, n (%)			
Sim	2 (6,67)	6 (9,37)	
Não	27 (90)	51 (79,68)	0,7117
Não respondeu	1 (3,33)	7 (10,95)	
Antecedentes Familiares, n (%)			
Sim	2 (6,67)	2 (3,11)	
Não	27 (90)	55 (85,94)	0,6004
Não respondeu	1 (3,33)	7 (10,95)	
Via de Parto, n (%)			
Não respondeu	15 (50)	26 (40,62)	
Não sabe	1 (3)	4 (6,25)	0,8846
Normal	11 (36,67)	25 (39,06)	

Cesárea	4 (10,33)	9 (14,06)	
Amamentação, n (%)			
Não respondeu	17 (56,67)	27 (42,2)	
Não foi amamentado	0 (0)	5 (7,81)	
< 6 meses	2 (6,66)	5 (7,81)	
Até 6 meses	0 (0)	3 (4,69)	0,5553
>6 meses	5 (16,66)	14 (21,87)	
Não sabe o tempo	6 (20)	10 (15,63)	
Uso de Antibiótico na infância, n (%)			
Não respondeu	16 (53,34)	26 (40,62)	
Sim	2 (6,66)	5 (7,81)	
Não	5 (16,66)	15 (23,44)	0,9695
Não sabe	7 (23,33)	18 (28,13)	
Uso de suplemento, n (%)			
não	20 (66,66)	47 (73,44)	
sim	2 (6,66)	4 (6,25)	1,0000
Não respondeu	8 (26,66)	13 (20,31)	
Ingestão Hídrica, n (%)			
< 4 copos	5 (16,66)	13 (20,31)	0,8919
4 – 8 copos	7 (23,33)	18 (28,12)	
>8 copos	3 (10)	11 (17,18)	
Não respondeu	15 (50)	22 (34,37)	

Dados apresentados em média e desvio padrão, frequência e porcentagem.

Segundo o Score de Montreal para os pacientes em remissão endoscópica, 13,64% dos pacientes receberam diagnóstico antes dos 16 anos, 59,9% entre 17 e 40 anos (A2) e 27,27% acima dos 40 anos (A3). Quanto a localização da doença, 36,36% estão no íleo terminal (L1), 18,18% no cólon (L2) e 45,45% ileocólica (L3). Quanto ao comportamento 27,27% são classificados como não estenosante e não penetrante (B1), 36,36% como estenosante (B2) e 36,36% como penetrante (B3), e cerca de 68,18% possuíam doença perianal. O valor médio do SES-CD foi de $1,43 \pm 1,62$ pontos. Segundo a classificação de HBI a pontuação média dos pacientes é de $1,41 + 1,44$. Para os pacientes em atividade endoscópica, 4,35% dos pacientes receberam diagnóstico antes dos 16 anos; 65,22% entre 17 e 40 anos (A2) e 30,43% acima dos 40 anos (A3). Quanto a localização da doença, 30,43% estão no íleo terminal (L1), 26,09% no cólon (L2) e 43,48% ileocólica (L3). Quanto ao comportamento 30,43% são classificados como não estenosante e não penetrante (B1), 30,43% como estenosante (B2) e 39,13% como penetrante (B3), e cerca de 43,48% possuíam doença perianal. O valor médio do SES-CD foi de $8,50 \pm 8,05$ pontos. Segundo a classificação de HBI a pontuação média dos pacientes é de $3,22 + 2,56$.

Pelo Mayo endoscópico os pacientes em remissão clínica, 26,32% apresentavam atividade discreta; e 44,74% em atividade moderada e 28,95% em atividade grave. Quanto a localização da doença, 14,63% possuíam colite distal, 24,39% hemicolite esquerda e 60,98% com pancolite. Para pacientes em remissão quanto a localização da doença, 25% hemicolite esquerda e 75% com pancolite.

As variáveis de Mayo endoscópico, score de mayo, HBI, classificação de atividade, atividade clínica, atividade histológica, atividade colonoscópica apresentaram $p < 0,0001$ (Tabela 12).

Tabela 12. Análise comparativa das características clínicas entre os pacientes em atividade e remissão endoscópica.

	Remissão Endoscópica (n=30)	Atividade Endoscópica (n=64)	p
Tempo de doença (anos), média \pm DP	11,97 \pm 7,87	9,65 \pm 8,52	0,2345
Montreal			
Idade ao diagnóstico, n (%)			
A1	3 (13,64)	1 (4,35)	0,5493
A2	13 (59,09)	15 (65,22)	
A3	6 (27,27)	7 (30,43)	
Localização, n (%)			
L1	8 (36,36)	7 (30,43)	0,8006
L2	4 (18,18)	6 (26,09)	
L3	10 (45,45)	10 (43,48)	
Comportamento, n (%)			
B1	6 (27,27)	7 (30,43)	0,9138
B2	8 (36,36)	7 (30,43)	
B3	8 (36,36)	9 (39,13)	
Doença Perianal, n (%)			
Sim	7 (68,18)	10 (43,48)	0,4200
Não	15 (31,82)	13 (56,52)	
Extensão RCU, n (%)			
Colite Distal	0 (0)	6 (14,63)	0,5016
Hemicolite Esquerda	2 (25)	10 (24,39)	
Pancolite	6 (75)	25 (60,98)	
Mayo Endoscópico, n (%)			
0	57 (100)	0	0,0092
1	0	10 (26,32)	
2	0	17 (44,74)	
3	0	11 (28,95)	
Score de Mayo Total	0,95 \pm 0,85	6,20 \pm 3,31	<0,0001
Harvey-Bradshaw, pontos \pm DP	1,41 \pm 1,44	3,22 \pm 2,56	0,0058
SES-CD, pontos \pm DP	1,43 \pm 1,62	8,50 \pm 8,05	<0,0001
Atividade Clínica, n (%)			
Sim	1 (3,33)	36 (56,25)	<0,0001
Não	29 (96,67)	28 (43,75)	
Atividade Histológica, n (%)			
Sim	3 (13,64)	34 (66,67)	<0,0001
Não	19 (86,36)	17 (33,33)	
Atividade Colono, n (%)			
Sim	0 (0)	64 (100)	<0,0001
Não	30 (100)	0 (0)	
Classificação Atividade, n (%)			
Atividade	0 (0)	8 (12,50)	<0,0001
Discreta	0 (0)	16 (25)	
Moderada	0 (0)	4 (6,25)	
Grave	1 (3,33)	9 (14,06)	

Remissão	29 (96,67)	27 (42,19)	
Tempo Colonoscopia (meses), média ± DP	3,13 ± 2,47	2,59 ± 2,26	0,5017
Uso de Azatioprina, n (%)	15 (50)	35 (54,69)	0,6712
Uso de Mesalazina, n (%)	3 (10)	17 (26,56)	0,1034
Uso de Prednisona, n (%)	1 (3,33)	12 (18,75)	0,0554
Uso de Biológico, n (%)	6 (20)	45 (70,31)	0,3217
Uso de Infliximabe, n (%)	7 (23,33)	15 (23,44)	0,9911
Uso de Adalimumabe, n (%)	17 (56,67)	26 (40,63)	0,1456
Uso de Certolizumabe, n (%)	0 (0)	1 (1,56)	1,0000
Uso de Vedolizumabe, n (%)	0 (0)	2 (3,13)	1,0000
Uso de Ustekinumabe, n (%)	0 (0)	1 (1,56)	1,0000
Uso de IBP, n (%)	3 (10,34)	8 (12,90)	1,0000
Uso de AINE, n (%)	0 (0)	2 (3,23)	1,0000
Hemoglobina (g/dl), média ± DP	13,19 ± 1,87	12,91 ± 1,82	0,5099
Hematócrito, n (%)	39,77 ± 4,42	39,11 ± 5,03	0,5593
PCR (mg/dl), média ± DP	1,43 ± 2,47	3,53 ± 9,96	0,0411
Calprotectina Fecal µg/g, média ± DP	179,92 ± 193,78	895,47 ± 1454,65	0,0012

Dados apresentados em média e desvio padrão, frequência e porcentagem.

As dosagens de calprotectina foram diferentes entre os pacientes com atividade e remissão endoscópica ($p=0,0012$). Os valores AGCC e a soma dos AGCC não foram diferentes significativamente conforme mostrado na Tabela 13.

Tabela 13. Concentrações de ácido acético, propiônico, butírico e a soma dos AGCCs entre os pacientes em atividade ou remissão endoscópica.

	Remissão endoscópica (n = 57)	Atividade endoscópica (n = 37)	p
Ácido Acético, média ± DP	0,30 ± 0,18	0,33 ± 0,19	0,4726
Ácido Propiônico, média ± DP	0,24 ± 0,09	0,24 ± 0,11	0,9731
Ácido Butírico, média ± DP	0,18 ± 0,09	0,19 ± 0,11	0,5338
Soma dos Ácidos, média ± DP	0,72 ± 0,28	0,77 ± 0,34	0,5216

Dados apresentados em média e desvio padrão, frequência e porcentagem.

6. Discussão

Ácidos Graxos de Cadeia Curta (AGCC) são ácidos carboxílicos com caudas alifáticas de 1 a 6 carbonos, dos quais acetato, propionato e butirato são os mais abundantes produzidos pela fermentação anaeróbica de fibras dietéticas no intestino. A formação de butirato e propionato no intestino ocorre através do metabolismo de carboidratos na glicólise principalmente, ou a partir do metabolismo de ácidos orgânicos e aminoácidos (LOUIS and FLINT, 2017). Além disso, o acetato é o AGCC mais abundante no intestino produzido a partir da acetil-CoA derivada da glicólise e pode ser transformado em butirato pela enzima butiril-CoA:acetil-CoA transferase (DEN BESTEN et al., 2013).

Várias alterações ocorrem na mucosa intestinal de pacientes com DII em atividade ou remissão em comparação com indivíduos saudáveis, dentre elas a composição e função da microbiota, referida como disbiose. A disbiose em pacientes com DII está associada a diminuição de bactérias produtoras de AGCCs e, conseqüentemente, sua concentração intestinal (VENEGAS et al. 2019). A diversidade do microbioma é afetada pela geografia, etnia e estilo de vida, mesmo na população saudável (GUPTA et al., 2017), que também inclui a abundância de bactérias produtoras de AGCCs.

Levanta-se alguns fatores que possivelmente podem ser atribuídos às causas desta alteração da microbiota intestinal, entre os quais estão: o uso indiscriminado de antibióticos, que matam tanto as bactérias úteis como as nocivas e de antiinflamatórios hormonais e não-hormonais; o abuso de laxantes; o consumo excessivo de alimentos processados em detrimento de alimentos crus; a excessiva exposição a toxinas ambientais; as doenças consumptivas; as disfunções hepatopancreáticas; o estresse e a diverticulose. Considera também outros fatores como a idade, o tempo de trânsito e pH intestinal, a disponibilidade de material fermentável e o estado imunológico do hospedeiro (SILVA, 2006).

A figura 2, traz a exemplificação dos processos de produção, absorção e excreção dos AGCCs no intestino saudável e inflamado, como nas DII. De modo geral é possível observar que na mucosa inflamada há redução da produção dos AGCC devido a redução da diversidade das bactérias produtoras e conseqüente redução da absorção devido a inflamação da mucosa e redução dos receptores.

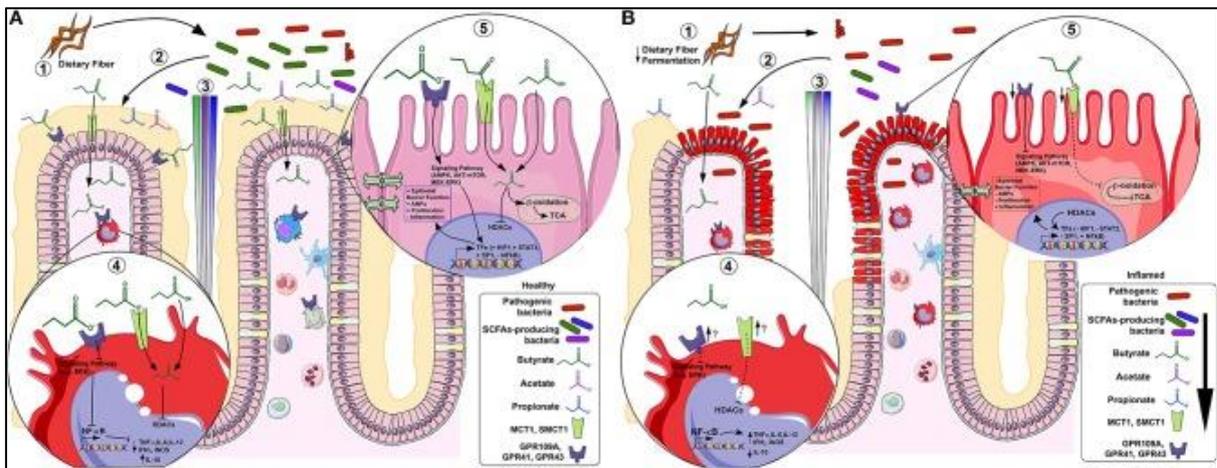


Figura 2: Na mucosa saudável, (1) fermentação bacteriana de fibra dietética (DF) por bactérias produtoras de SCFAs (por exemplo, *F. prausnitzii*), aumenta o conteúdo luminal de butirato (verde), propionato (azul) e acetato (roxo) (2), formando um gradiente ao longo da cripta. Em macrófagos da lâmina própria (LP) sob estímulo inflamatório agudo (4), o butirato inibe as histonas desacetilases (HDACs) assim; A expressão de mediadores pró-inflamatórios induzidos por NF-κB (por exemplo, TNF-α, IL-6, IL-12 e iNOS) enquanto aumenta a expressão de mediadores anti-inflamatórios (por exemplo, IL-10). Nos colonócitos (5), o butirato é β-oxidado a Acetil-CoA e constitui a principal fonte de energia ao entrar no ciclo do TCA. Alternativamente, o butirato inicia a ativação da via de sinalização (ou repressão) por GPCRs e/ou inibe diretamente HDACs, ativando assim (por exemplo, HIF-1, STAT3 e SP1) ou reprimindo (por exemplo, NF-κB) fatores de transcrição (TFs), aumentando epitelial função de barreira, produção de peptídeos antimicrobianos (AMPs), proliferação celular e diminuição da inflamação. Na mucosa inflamada como IBD, (1) uma diminuição da fermentação de DF por baixos níveis de bactérias produtoras de SCFAs (por exemplo, *F. prausnitzii*) (2), reduz o conteúdo luminal de SCFAs (3). Em macrófagos inflamatórios LP (4), a ativação de butirato-GPCRs e a inibição de -HDACs são reguladas negativamente, assim, há expressão descontrolada de mediadores pró-inflamatórios induzidos por NF-κB (por exemplo, TNF-α, IL-6, IL-12 e iNOS) e diminuição de mediadores anti-inflamatórios (por exemplo, IL-10), embora pareça que a inflamação aumenta a expressão de GPCRs e transportadores. Em colonócitos inflamados (5), a absorção e oxidação de butirato são diminuídas e GPCRs e transportadores também são regulados negativamente. Isso contribui para a diminuição da integridade da barreira epitelial, produção de AMPs, proliferação celular e aumento da inflamação (VENEGAS et al. 2019).

Como consequência da redução nos produtores de AGCCs, os níveis de AGCCs são frequentemente encontrados diminuídos em amostras fecais de pacientes com DII. Um estudo mostrou que acetato e propionato, mas não butirato, são reduzidos em amostras fecais de pacientes com RCU (MACHIELS et al., 2014). Em outro estudo, foi encontrada uma redução de butirato e propionato em amostras de fezes de pacientes com DII (HUDA-FAUIAN et al., 2014). Da mesma forma, um baixo teor de n-butilato, isobutilato e acetato foi detectado nas fezes de pacientes com RCU grave.

Os resultados encontrados neste estudo divergem dos estudos citados anteriormente, foi observada significância entre as dosagens dos AGCCs entre portadores de DII e indivíduos saudáveis, onde o grupo paciente apresentou valores maiores nas dosagens fecais de todos os AGCCs em comparação com o grupo controle (tabela 4). As dosagens fecais dos AGCCs refletem a porção que foi

produzida, mas não foi absorvida, e assim excretada nas fezes. Sabendo que os portadores de DII possuem a microbiota e mucosa intestinal alteradas como já elucidado anteriormente, assume-se que há menor produção e absorção dos AGCC nestes pacientes. No presente estudo observamos maior dosagem de AGCC no grupo paciente em comparação ao grupo controle. Uma hipótese seria que o grupo controle apresenta maior absorção de AGCC em comparação aos pacientes e, portanto, sua excreção dosada nas fezes seria menor.

McNeil et al., (1978), mostrou que a quantificação de AGCCs intestinais humanos fornece apenas níveis de estado estacionário e pode não refletir com precisão o nível de produção bacteriana, pois a maioria dos AGCCs produzidos no lúmen colônico (90-95%) são absorvidos pela mucosa intestinal e apenas 5 a 10% são excretados nas fezes, demonstrando assim que os valores encontrados podem não refletir com precisão a produção dos AGCC destes indivíduos.

Outra hipótese é a de que as análises das variáveis clínicas do grupo paciente segundo a classificação da atividade evidenciaram que cerca de 59,57% deles estavam em remissão da doença e 25,53% em atividade discreta e apenas 4,26% da amostra em atividade grave, o que corrobora com os achados de Kumari et al. (2013) demonstrando que a redução nos níveis de AGCCs pode estar relacionada à atividade da doença, onde foi detectado nível mais alto de n-butilato em pacientes com RCU em remissão em comparação com aqueles com a doença ativa.

Mais um fator determinante para a produção dos AGCC é a dieta dos indivíduos, que neste estudo não foi avaliada. Jang et al., (2019) mostraram que dieta pobre em carboidratos e fibras alimentares, que são os principais nutrientes que fornecem energia para os microrganismos intestinais, pode levar a redução da diversidade na microbiota intestinal; ao passo que a dieta rica em proteínas e gorduras demonstrou diminuição na quantidade de bactérias comensais produtoras de AGCC. A análise de AGCCs em amostras fecais é usada como uma aproximação dos níveis intestinais, uma vez que as concentrações excretadas de AGCCs estão associadas a dietas enriquecidas com substratos de bactérias produtoras de AGCCs, inferindo a relação entre a produção intestinal de AGCCs e os níveis fecais (MC ORIST et al., 2011; HAENEM et al., 2013).

Os valores de calprotectina fecal foram significantes tanto na comparação entre os grupos paciente e controle ($p < 0,0001$), atividade e remissão clínica ($p < 0,0001$), e atividade e remissão endoscópica ($p = 0,0012$) reafirmando a presença de inflamação no grupo paciente. A calprotectina é biomarcador de atividade inflamatória, assim demonstrando diferenciar a DII ativa e em remissão (LANGHORST et al., 2008). Para este estudo, não foi determinado valor mínimo e máximo de calprotectina para inclusão dos indivíduos no grupo paciente. Alguns indivíduos do grupo paciente apresentaram valores de calprotectina < 30 mcg/g, o que mostra ausência de atividade inflamatória, algumas variáveis clínicas destes pacientes podem se comportar da mesma forma que os indivíduos sem doença, podendo ser um viés de confusão.

Podemos citar algumas limitações do estudo, como baixo número de indivíduos no grupo controle, inferior ao número de pacientes. Outra limitação foi a falta de análise da ingestão alimentar dos participantes do estudo, o que poderia elucidar algumas questões como a quantidade de fibras da dieta. A dosagem sanguínea dos AGCC poderia responder a questão referente à produção e absorção dos AGCC no intestino, porém não houve coleta de sangue dos participantes do estudo. Por fim, a análise da microbiota intestinal pode contribuir para elucidação dos questionamentos levantados por esse estudo. Com essa análise podemos identificar a presença de disbiose intestinal e comparar os achados entre os pacientes e o grupo controle. Pretendemos realizar essa análise como próxima etapa do projeto.

Apesar dessas limitações, este estudo traz importantes contribuições para o entendimento da produção e excreção de AGCC nos pacientes com DII e levanta outros pontos a serem elucidados no futuro.

7. Conclusão

O perfil de AGCCs em indivíduos com DII é diferente comparado aos indivíduos saudáveis, porém não foi possível determinar neste estudo em qual etapa da cadeia de utilização destes ácidos esta diferença se inicia.

Os valores de AGCCs fecal em indivíduos com DII foram maiores em comparação aos indivíduos saudáveis. Mais estudos serão necessários para avaliar e determinar o perfil dos AGCCs, e assim propor terapias que auxiliem na modulação da microbiota destes pacientes e desenvolvimento de novos alvos de tratamento no futuro.

8. Referências

- Almeida, Luciana Barros, et al. "Disbiose intestinal." *Revista Brasileira de Nutrição Clínica* 24.1 (2009): 58-65.
- Binder, Henry J., and Prasun Mehta. "Short-chain fatty acids stimulate active sodium and chloride absorption in vitro in the rat distal colon." *Gastroenterology* 96.4 (1989): 989-996.
- Breuer, R. I., et al. "Short chain fatty acid rectal irrigation for left-sided ulcerative colitis: a randomised, placebo controlled trial." *Gut* 40.4 (1997): 485-491.
- D'haens, Geert, et al. "A review of activity indices and efficacy end points for clinical trials of medical therapy in adults with ulcerative colitis." *Gastroenterology* 132.2 (2007): 763-786.
- Daperno, M. et al. Development and validation of a new, simplified endoscopic activity score for Crohn's disease: the SES-CD. *Gastrintest Endosc*, v.60, pp.505-12, 2004.
- Den Besten, Gijs, et al. "The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism." *Journal of lipid research* 54.9 (2013): 2325-2340.
- Dhaliwal, A., et al. "Utility of faecal calprotectin in inflammatory bowel disease (IBD): what cut-offs should we apply?." *Frontline Gastroenterology* 6.1 (2015): 14-19.
- Freire, P.; Portela, F.; Sofia, C. Scores Endoscópicos na Doença de Crohn: Artigo de Revisão. *Rev Port Coloproct*. V.7, n.3, pp.126-34, 2010
- García-Villalba, Rocio, et al. "Alternative method for gas chromatography-mass spectrometry analysis of short-chain fatty acids in faecal samples." *Journal of separation science* 35.15 (2012): 1906-1913.
- Gupta, Vinod K., Sandip Paul, and Chitra Dutta. "Geography, ethnicity or subsistence-specific variations in human microbiome composition and diversity." *Frontiers in microbiology* 8 (2017): 1162.
- Haenen, Daniëlle, et al. "A diet high in resistant starch modulates microbiota composition, SCFA concentrations, and gene expression in pig intestine." *The Journal of nutrition* 143.3 (2013): 274-283.
- Harvey, R. F., and J. M. Bradshaw. "A simple index of Crohn's-disease activity." *The Lancet* 315.8167 (1980): 514.
- Iriti, Marcello, and Elena M. Varoni. "Cardioprotective effects of moderate red wine consumption: Polyphenols vs. ethanol." *Journal of Applied Biomedicine* 12.4 (2014): 193-202.
- James, Sally L., et al. "Abnormal fibre usage in UC in remission." *Gut* 64.4 (2015): 562-570.
- Jang, Lae-Guen, et al. "The combination of sport and sport-specific diet is associated with characteristics of gut microbiota: an observational study." *Journal of the International Society of Sports Nutrition* 16.1 (2019): 21
- Kaplan, Gilaad G. "The global burden of IBD: from 2015 to 2025." *Nature reviews Gastroenterology & hepatology* 12.12 (2015): 720-727.
- Kim, Chang H., Jeongho Park, and Myunghoo Kim. "Gut microbiota-derived short-chain fatty acids, T cells, and inflammation." *Immune network* 14.6 (2014): 277-288.
- Kumari, Reena, Vineet Ahuja, and Jaishree Paul. "Fluctuations in butyrate-producing bacteria in ulcerative colitis patients of North India." *World journal of gastroenterology: WJG* 19.22 (2013): 3404.

- Langhorst, Jost, et al. "Noninvasive markers in the assessment of intestinal inflammation in inflammatory bowel diseases: performance of fecal lactoferrin, calprotectin, and PMN-elastase, CRP, and clinical indices." *Official journal of the American College of Gastroenterology | ACG* 103.1 (2008): 162-169.
- Lerner, Immanuel, et al. "Heparanase powers a chronic inflammatory circuit that promotes colitis-associated tumorigenesis in mice." *The Journal of clinical investigation* 121.5 (2011): 1709-1721.
- Liu, Chang-Shun, et al. "Gegen Qinlian decoction treats diarrhea in piglets by modulating gut microbiota and short-chain fatty acids." *Frontiers in microbiology* 10 (2019): 825.
- Louis, Petra, and Harry J. Flint. "Formation of propionate and butyrate by the human colonic microbiota." *Environmental microbiology* 19.1 (2017): 29-41.
- Machiels, Kathleen, et al. "A decrease of the butyrate-producing species *Roseburia hominis* and *Faecalibacterium prausnitzii* defines dysbiosis in patients with ulcerative colitis." *Gut* 63.8 (2014): 1275-1283.
- Magro, Fernando, et al. "Third European evidence-based consensus on diagnosis and management of ulcerative colitis. Part 1: definitions, diagnosis, extra-intestinal manifestations, pregnancy, cancer surveillance, surgery, and ileo-anal pouch disorders." *Journal of Crohn's and Colitis* 11.6 (2017): 649-670.
- McNeil, N. Ian, J. H. Cummings, and W. P. James. "Short chain fatty acid absorption by the human large intestine." *Gut* 19.9 (1978): 819-822.
- McOrist, Alexandra L., et al. "Fecal butyrate levels vary widely among individuals but are usually increased by a diet high in resistant starch." *The Journal of nutrition* 141.5 (2011): 883-889.
- Meijer, Kees, Paul de Vos, and Marion G. Priebe. "Butyrate and other short-chain fatty acids as modulators of immunity: what relevance for health?." *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care* 13.6 (2010): 715-721.
- Parada Venegas, Daniela, et al. "Short chain fatty acids (SCFAs)-mediated gut epithelial and immune regulation and its relevance for inflammatory bowel diseases." *Frontiers in immunology* (2019): 277.
- Pereira, Izabela Gelisk, and Izabela Aparecida Rodrigues Ferraz. "Suplementação de glutamina no tratamento de doenças associadas à disbiose intestinal." *Revista brasileira de saúde funcional* 5.1 (2017): 46-46.
- Rutgeerts, Paul, et al. "Infliximab for induction and maintenance therapy for ulcerative colitis." *New England Journal of Medicine* 353.23 (2005): 2462-2476.
- Schirmer, Melanie, et al. "Microbial genes and pathways in inflammatory bowel disease." *Nature Reviews Microbiology* 17.8 (2019): 497-511.
- Sidhu, Mayenaaz, and David van der Poorten. "The gut microbiome." *Australian family physician* 46.4 (2017): 206-211.
- Silva, L. F. G. "Disbiose intestinal: conheça as causas e os tratamentos. 2001." (2006).
- Silverberg, Mark S., et al. "Toward an integrated clinical, molecular and serological classification of inflammatory bowel disease: report of a Working Party of the 2005 Montreal World Congress of Gastroenterology." *Canadian journal of gastroenterology* 19.Suppl A (2005): 5A-36A.

- Simeoli, Raffaele, et al. "An orally administered butyrate-releasing derivative reduces neutrophil recruitment and inflammation in dextran sulphate sodium-induced murine colitis." *British journal of pharmacology* 174.11 (2017): 1484-1496.
- Spagnuolo, Rocco, et al. "Weight gain and liver steatosis in patients with inflammatory bowel diseases." *Nutrients* 11.2 (2019): 303.
- Torres, J., et al. "ECCO guidelines on therapeutics in Crohn's disease." *medical treatment* 2020 (2019): 14.
- Uranga, José Antonio, et al. "Food, nutrients and nutraceuticals affecting the course of inflammatory bowel disease." *Pharmacological Reports* 68.4 (2016): 816-826.
- Walsh, A. J., et al. "Comparing disease activity indices in ulcerative colitis." *Journal of Crohn's and Colites* 8.4 (2014): 318-325.
- Wang, Haidong, et al. "Butyrate glycerides protect against intestinal inflammation and barrier dysfunction in mice." *Nutrients* 14.19 (2022): 3991.
- Zapolska-Downar, Danuta, et al. "Butyrate inhibits cytokine-induced VCAM-1 and ICAM-1 expression in cultured endothelial cells: the role of NF- κ B and PPAR α ." *The Journal of nutritional biochemistry* 15.4 (2004): 220-228.
- Zhang, Mingming, et al. "Butyrate inhibits interleukin-17 and generates Tregs to ameliorate colorectal colitis in rats." *BMC gastroenterology* 16.1 (2016): 1-9.
- Zhao, Guohua, Margareta Nyman, and Jan Åke Jönsson. "Rapid determination of short-chain fatty acids in colonic contents and faeces of humans and rats by acidified water-extraction and direct-injection gas chromatography." *Biomedical Chromatography* 20.8 (2006): 674-682.
- Zhao, Ye, et al. "GPR43 mediates microbiota metabolite SCFA regulation of antimicrobial peptide expression in intestinal epithelial cells via activation of mTOR and STAT3." *Mucosal immunology* 11.3 (2018): 752-762.

9. Anexos

9.1. Anexo 1. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (grupo controle)

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Resolução 466/2012

CONVIDO, o Senhor(a) para participar do Projeto de Pesquisa “Estudo comparativo sobre a microbiota intestinal e o perfil de produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCCs) entre pacientes com Doença Inflamatória Intestinal e indivíduos saudáveis” que será desenvolvido por mim, Leticia Patrocínio de Oliveira, Nutricionista, com orientação da Prof^a Dr^a Ligia Yukie Sasaki, médica gastroenterologista da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP.

Sua participação nesta pesquisa se dará por ser uma pessoa saudável, sem nenhum tipo de doença. Todos os dados que obtivermos com sua participação é meramente para compararmos com os dados de outros participantes que possuem a doença que estamos estudando.

Solicito também seu consentimento para levantar seu prontuário médico para coletar outras informações lá contidas, que possam fornecer subsídios para fazer comparação entre o indivíduo saudável e em tratamento de doença.

O(a) senhor(a) será convidado a responder a 1 questionário que durará em média 40 minutos e realizar coleta de fezes (que será realizada em sua própria residência pelo(a) senhor(a) com o material que entregaremos ao senhor(a)) e de aproximadamente 30 mL de sangue para realização de exames com o único objetivo de comparar com os dados de outros participantes. Esta coleta de sangue pode lhe gerar um pouco de dor, inchaço ou uma área roxa no local de entrada da agulha.

Com estes dados temos o seguinte objetivo: Determinar e comparar o perfil de produção de AGCCs em pacientes com Doença Inflamatória Intestinal e indivíduos saudáveis.

Para seu esclarecimento, informamos que serão mantidos sob sigilo seus dados pessoais. Os resultados obtidos com a pesquisa poderão ser apresentados em congressos e/ou publicados em revistas científicas, sem qualquer identificação dos participantes.

Aceitando participar deste estudo, o senhor(a) estará contribuindo para a análise das eventuais diferenças encontradas e se elas podem estar relacionadas ao desenvolvimento da doença e se serviriam como novos marcadores, auxiliando a caracterizar a doença. A participação nesta pesquisa não lhe causará qualquer risco pessoal ou desconforto. O Senhor (a) não terá nenhum benefício pessoal em participar desta pesquisa, pois como já explicamos seus dados serão meramente para comparar com os dados de uma pessoa em tratamento de doença.

Fique ciente de que sua participação neste estudo é voluntária e que mesmo após ter dado seu consentimento para participar da pesquisa, você poderá retirá-lo a qualquer momento, sem qualquer penalidade.

Este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido será elaborado em 2 vias de igual teor, o qual 01 via será entregue ao Senhor (a) devidamente rubricada, e a outra via será arquivada e mantida pelos pesquisadores por um período de 5 anos após o término da pesquisa.

Qualquer dúvida adicional você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa através dos telefones (14) 3880-1608 ou 3880-1609 que funciona de 2ª a 6ª feira das 8.00 às 11.30 e das 14.00 às 17horas, na Chácara Butignolli s/nº em Rubião Júnior – Botucatu - São Paulo. Os dados de localização dos pesquisadores estão abaixo descritos.

Após terem sido sanadas todas minhas dúvidas a respeito deste estudo, Eu, _____ CONCORDO EM PARTICIPAR de forma voluntária “Estudo comparativo sobre a microbiota intestinal e o perfil de produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCCs) entre pacientes com Doença Inflamatória Intestinal e indivíduos saudáveis”, estando ciente que todos os meus dados estarão resguardados através do sigilo que os pesquisadores se comprometeram. Estou ciente que os resultados desse estudo poderão ser publicados em revistas científicas sem, no entanto, que minha identidade seja revelada.

Botucatu, ____ de _____ de _____.

Assinatura do voluntário

Assinatura do pesquisador

Pesquisador responsável:

Leticia Patrocinio de Oliveira

Fone: (11) 957872551

e-mail: lepatrocinio.nutri@gmail.com

Orientadora:

Profª. Drª. Lígia Yukie Sasaki

Departamento de Clínica Médica, Hospital das Clínicas de Botucatu, Rubião Junior, s/n, Botucatu – SP.

Fone: (14) 3880-1171

9.2.. Anexo 2. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (grupo DII)

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Resolução 466/2012

CONVIDO, o Senhor(a) para participar do Projeto de Pesquisa intitulado “Estudo comparativo sobre a microbiota intestinal e o perfil de produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCCs) entre pacientes com Doença Inflamatória Intestinal e indivíduos saudáveis” que será desenvolvido por mim, Leticia Patrocinio de Oliveira, Nutricionista, com orientação da Prof^a Dr^a Ligia Yukie Sasaki, médica gastroenterologista da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP.

O(a) senhor(a) será convidado a responder a 1 questionário que durará em média 40 minutos e realizar coleta de fezes (que será realizada em sua própria residência pelo senhor(a) com o material que entregaremos ao senhor) e de aproximadamente 30 ml de sangue para realização de exames que já são realizados na rotina dessa doença. Esta coleta de sangue pode lhe gerar um pouco de dor, inchaço ou uma área roxa no local de entrada da agulha.

Com estes dados temos o seguinte objetivo: Determinar e comparar o perfil de produção de AGCCs em pacientes com Doença Inflamatória Intestinal e indivíduos saudáveis.

Informo que o material biológico colhido do Senhor(a), não será usado em sua totalidade e parte dele será armazenada na Faculdade de Medicina de Botucatu. E solicito seu consentimento para reutilizá-lo posteriormente, caso necessário.

Solicito também seu consentimento para consultar seu prontuário médico para coletar outras informações lá contidas como diagnóstico, atividade da doença, exames laboratoriais e de imagem referentes a consultas feitas anteriormente pelo(a) Senhor(a).

Para seu esclarecimento, informamos que serão mantidos sob sigilo seus dados pessoais. Os resultados obtidos com a pesquisa poderão ser apresentados em congressos e/ou publicados em revistas científicas, sem qualquer identificação dos participantes.

Aceitando participar deste estudo, o senhor(a) estará contribuindo para a análise das eventuais diferenças encontradas e se elas podem estar relacionadas ao desenvolvimento da doença e se serviriam como novos marcadores, auxiliando a caracterizar a doença. A participação nesta pesquisa não lhe causará qualquer risco pessoal ou desconforto.

Informamos que o(a) senhor(a) terá acesso, a qualquer tempo, às informações sobre os procedimentos relacionados à pesquisa a fim de esclarecer eventuais dúvidas. Fique ciente de que sua participação neste estudo é voluntária e que mesmo após ter dado seu consentimento para participar da pesquisa, você poderá retirá-lo a qualquer momento, sem qualquer prejuízo na continuidade do seu tratamento.

Devemos ainda esclarecer que este documento foi realizado de acordo com a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde – Ministério da Saúde, que trata de pesquisas envolvendo seres humanos. Este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido será elaborado em 2 vias de igual teor, o qual 01 via será entregue ao Senhor (a) devidamente rubricada, e a outra via será arquivada e mantida pelos pesquisadores por um período de 5 anos após o término da pesquisa.

Aceitando participar deste estudo, o senhor(a) estará contribuindo para a análise das eventuais diferenças encontradas e se elas podem estar relacionadas à patogênese da doença e se serviriam como biomarcadores metabólicos importantes de alterações relacionadas à doença. A participação nesta pesquisa não lhe causará qualquer risco pessoal ou desconforto.

Qualquer dúvida adicional você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa através dos telefones (14) 3880-1608 ou 3880-1609 que funciona de 2ª a 6ª feira das 8.00 às 11.30 e das 14.00 às 17horas, na Chácara Butignolli s/nº em Rubião Júnior – Botucatu - São Paulo. Os dados de localização dos pesquisadores estão abaixo descritos.

Após terem sido sanadas todas minhas dúvidas a respeito deste estudo, Eu, _____ CONCORDO EM PARTICIPAR de forma voluntária do “Estudo comparativo sobre a microbiota intestinal e o perfil de produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCCs) entre pacientes com Doença Inflamatória Intestinal e indivíduos saudáveis”, estando ciente que todos os meus dados estarão resguardados através do sigilo que os pesquisadores se comprometeram. Estou ciente que os resultados desse estudo poderão ser publicados em revistas científicas sem, no entanto, que minha identidade seja revelada.

Botucatu, ____ de _____ de _____.

Assinatura do voluntário

Assinatura do pesquisador

Pesquisador responsável:

Leticia Patrocinio de Oliveira

Fone: (11) 957872551

e-mail: lepatrocinio.nutri@gmail.com

Orientadora:

Profª. Drª. Lígia Yukie Sasaki

Departamento de Clínica Médica, Hospital das Clínicas de Botucatu, Rubião Junior, s/n, Botucatu – SP.

Fone: (14) 3880-1171

9.3. Anexo 3. Protocolo de Atendimento – Grupo Paciente

Estudo: AGCC

Data: ___/___/___

Nome: _____ RG/HC: _____

Cidade: _____ DN: ___/___/___ Estado Civil: _____

Profissão: _____ Escolaridade: _____

Tel: () _____ / _____ AF: _____

Número de pessoas na casa: _____

Renda Familiar (SM): _____

História Atual da Doença (diagnóstico principal/ tempo da doença):

- RCU Distal Remissão Leve
 RCU Esquerda Moderada Grave
 Pancolite Pontuação MAYO: _____

Número de evacuações:	Pontos
0 – habitual do paciente 1 – 1 a 2 vezes além do habitual 2 – 3 a 4 vezes além do habitual 3 – 5 ou + vezes além do habitual	
Presença de sangramento retal: 0 – sem sangue visível 1 – estrias nas fezes em menos de metade das evacuações 2 – sangue vivo nas fezes na maioria das evacuações 3 – evacuação apenas com sangue	
Achados endoscópicos: 0 – normal ou doença inativa 1 – leve: eritema, diminuição do padrão vascular, discreta friabilidade 2 – moderada: eritema intenso, perda padrão vascular, friabilidade, erosões 3 – grave: sangramento espontâneo, ulceração	
Avaliação global: desconforto abdominal, bem-estar, PPS, exame físico 0 – normal 1 – doença discreta 2 – doença moderada 3 – doença grave	

Remissão: 0 a 2 pontos / Atividade Discreta: 3 a 5 pontos / Atividade Moderada: 6 a 10 pontos /

Atividade Grave: 11 e 12 pontos

Presença de doenças crônicas e/ou histórico familiar: S N

Especificar:

Atividade endoscópica:

Colonoscopia:

Data: ___/___/___	
-----------------------------	--

Parâmetros bioquímicos

	Hb	Ht	PCR	VHS	Alb
1ª consulta					

Medicações em uso:

Hábito Intestinal: _____

Ingestão Hídrica: < 4 copos 4-8 copos > 8 coposEtilismo: S N Consumo: _____ g/dia.Tabagismo: S N Consumo: _____ maços/dia.

Intolerância ou Alergia: _____

Vegetariano: S N Suplemento ou Complemento Nutricional: S N

Tipo: _____ Dose: _____ Período: _____

Probiótico ou Prebiótico: S N

Tipo: _____ Dose: _____ Período: _____

Via de Parto: Normal CesáreaAmamentação: S N Por quanto tempo: _____Usou fórmula? S N Por quanto tempo: _____Consumiu leite de vaca: S N Por quanto tempo: _____Uso de antibiótico na infância: S N Não lembra

Com qual idade: _____

Avaliação Antropométrica:

Data	Peso	Estatura	IMC	Perda/ganho de Peso
	___ kg	___ m	___ kg/m ² Classificação: _____	___ % T Tempo: _____

9.4. Anexo 4. Protocolo atendimento – Grupo Controle

Estudo: AGCC

Data: ____/____/____

Nome: _____

Telefone: _____

Idade: _____

Sexo: Feminino Masculino

Etnia: Branca Não Branca

Presença de doenças crônicas e/ou histórico familiar: S N

Especificar: _____

Uso de medicações: _____

Coleta da amostra

Data: ____/____/____

Número da amostra: _____

9.5. Anexo 5. Parecer do Comitê de Ética

DADOS DA VERSÃO DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Projeto Temático: Novas abordagens de diagnóstico e modulação da microbiota intestinal em pacientes com retocolite ulcerativa, supervisionado pelo prof Titular Luiz Claudio Di Stasi com a colaboração dos prof Dr Ligia Yukie Sasaki e Fernando Gomes Roimeiro subdividido em 3 projetos: Sub-projeto 1: MicroRNAs como ferramenta de diagnóstico e prognóstico em pacientes com DII Sub-projeto 2: Estudo comparativo sobre o perfil de produção de ácidos graxos de cadeia curta entre pacientes com Retocolite Ulcerativa e indivíduos saudáveis Sub-projeto 3: Estudo clínico randomizado controlado e duplo-cego sobre a suplementação alimentar com a farinha de Musa sp AAA em pacientes com RCU

Pesquisador Responsável: LUIZ CLAUDIO DI STASI

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 71379417.2.0000.5411

Submetido em: 10/04/2019

Instituição Proponente: Departamento de Farmacologia

Situação da Versão do Projeto: Aprovado

Localização atual da Versão do Projeto: Pesquisador Responsável

Patrocinador Principal: FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SAO PAULO

Approved



Comprovante de Recepção:  PB_COMPROVANTE_RECEPCAO_1332837