

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE CIRURGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA

STHELA MARIA MURAD REGADAS

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM FIBRA SOLÚVEL OU
FRUTOOLIGOSSACARÍDEOS SOBRE A INFLAMAÇÃO E O METABOLISMO NO
COLO NORMAL OU NA VIGÊNCIA DE COLITE INDUZIDA POR ÁCIDO
TRINITROBENZENO SULFÔNICO, EM RATOS.

FORTALEZA

2004

STHELA MARIA MURAD REGADAS

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM FIBRA SOLÚVEL OU
FRUTOOLIGOSSACARÍDEOS SOBRE A INFLAMAÇÃO E O METABOLISMO NO
COLO NORMAL OU NA VIGÊNCIA DE COLITE INDUZIDA POR ÁCIDO
TRINITROBENZENO SULFÔNICO, EM RATOS

Tese submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Cirurgia.

Orientador: Prof. Dr. Lusmar Veras Rodrigues

STHELA MARIA MURAD REGADAS

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM FIBRA SOLÚVEL OU FRUTOOLIGOSSACARÍDEOS SOBRE A INFLAMAÇÃO E O METABOLISMO NO COLO NORMAL OU NA VIGÊNCIA DE COLITE INDUZIDA POR ÁCIDO TRINITROBENZENO SULFÔNICO, EM RATOS

Tese submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Cirurgia.

Aprovada em ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Lusmar Veras Rodrigues (orientador)
Universidade Federal do Ceará - UFC

Prof. Dr. Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos
Universidade Federal do Ceará - UFC

Prof. Dr. Marcellus Henrique Loiola Ponte De Sousa
Universidade Federal do Ceará – UFC

Prof. Dr. Juvenal Ricardo Navarro Goes
Universidade Federal de Campinas – UNICAMP

Prof. Dr. João de Aguiar Pupo Neto
Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ

R258a Regadas, Sthela Maria Murad

Efeitos da suplementação com fibra solúvel ou frutooligossacarídeos sobre a inflamação e o metabolismo no colo normal ou na vigência de colite induzida por ácido trinitrobenzeno sulfônico em ratos / Sthela Maria Murad Regadas. – Fortaleza, 2004.

134f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Lusmar Veras Rodrigues.

Tese (Doutorado em Cirurgia). Universidade Federal do Ceará. Departamento de Cirurgia.

1. Colite. 2. Fibra na dieta. 3. Rato. 4. Colo I Metabolismo. I. Rodrigues, Lusmar Veras. II. Título.
CDD 616.3447

É muito melhor arriscar coisas grandes,
Alcançar triunfos e glórias,
Mesmo expondo-se à derrotas amargas
Do que formar filas com pobres de espírito
Que nem muito sofrem, nem muito gozam
Porque vivem numa penumbra cinzenta
E não conhecem vitória e nem derrota.

Franklin Roosevelt

Muito especialmente, ao Sérgio, Carolina e Marina Regadas

Pelas nossas vitórias juntos conquistadas. Ao meu lado me dão muita força e amor.

Pelos nossos momentos de cumplicidade, companheirismo, compreensão, amizade, amor e acima de tudo respeito juntos desfrutados.

Ao meu pai José Marcolino,

Pela sua imensa sabedoria. As suas palavras ditas no momento certo, abrandava meu coração.

Pela honestidade, seriedade, eficiência e dedicação naquilo que faz, foram indispensáveis para formação dos meus valores.

À minha mãe Amélia e minha avó Maria,

Pelo verdadeiro AMOR E DEDICAÇÃO. Sempre ao meu lado me ajudando, companheiras de todos os momentos.

***In Memoriam*, aos meus avôs, Antonio José Murad e José Marcolino da Cruz.**

Pela presença marcante na minha formação. Pela sua constante vibração em cada momento da minha vida. Sei que se sentiriam orgulhosos e felizes ao meu lado nesse momento.

Aos meus irmãos,

Pelo amor e respeito.

AGRADECIMENTOS

Em especial,

A Deus, pela fé que me faz acreditar e pela força que me move para vencer os obstáculos e atingir meus objetivos.

Ao Professor Doutor LUSMAR VERAS RODRIGUES, Chefe do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, pelo apoio como orientador, pela competência e exigência na condução dos trabalhos, pelo constante estímulo e ensinamentos oportunos durante minha formação profissional.

Ao Professor Doutor MARCELLUS HENRIQUE LOIOLA PONTE DE SOUSA, do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, pela eficiência na orientação e permanente disponibilidade durante todo o trabalho, sem as quais não teria sido possível concretizá-lo.

Ao Professor Doutor PAULO ROBERTO LEITÃO DE VASCONCELOS, Coordenador do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, pelas valorosas sugestões e disponibilidade, tornando essa tarefa menos árdua.

À Professora Doutora GERLY ANNE DE CASTRO BRITO, do Departamento de Morfologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, admirável na forma de conduzir seus trabalhos, pela impressionante seriedade, dedicação, disponibilidade, compromisso e desprendimento com que colaborou nesta pesquisa.

Ao Professor Titular FRANCISCO SÉRGIO PINHEIRO REGADAS, do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, admirável pela sua determinação, pelo apoio e estímulo constantes além dos valiosos ensinamentos durante minha formação profissional. Minha eterna gratidão.

Ao Professor Doutor RONALDO ALBUQUERQUE RIBEIRO, do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará e Chefe do Grupo de Farmacologia do Processo inflamatório, pela gentileza em disponibilizar-me seu laboratório para realização deste trabalho.

Aos Professores Doutores PAULO ROBERTO LEITÃO DE VASCONCELOS, RONALDO ALBUQUERQUE RIBEIRO e RODRIGO DORNFELD ESCALANTE pela valiosa contribuição durante o exame de qualificação.

Aos Professores JOSÉ RIBAMAR BALDEZ e JOÃO BATISTA PINHEIRO BARRETO, do Departamento de Cirurgia e Anatomia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Maranhão, pelo apoio constante, incentivo e valiosos ensinamentos durante minha formação acadêmica.

Ao Professor JOSÉ EDUARDO OLIVEIRA, do Departamento de Estatística da Universidade Federal do Ceará, pela realização da análise estatística.

À Doutora ANNYA COSTA ARAÚJO DE MACEDO GOES, pela gentileza com que me disponibilizou seus arquivos de formatação de texto.

Aos estudantes de Medicina JOSÉ WALTER FEITOSA GOMES, IRISMAR DE AZEVEDO ANDRADE, CAMILA DE MELO MATOS LIMA, LÍVIA ARIANE LOPES, TIAGO DE OLIVEIRA MENDONÇA, RODRIGO PIMENTA GOMES, MAURÍCIO CAVALCANTE GOMES DE SOUZA CARVALHO e especialmente ao RUBENS DE WEIMAR CHAVES, reconhecidamente dedicados colaboradores, pelo empenho durante a etapa experimental desse estudo.

À Senhora MARIA LUCIENE VIEIRA DE OLIVEIRA, Secretária do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, dedicada e eficiente, pela permanente disponibilidade no desempenho de suas atividades profissionais, tornando-se amiga e estimuladora constante dos alunos da pós-graduação.

Ao Senhor BENTO FRANCISCO DE OLIVEIRA, Técnico do Biotério do Laboratório de Cirurgia Experimental da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, dedicado e cuidadoso com os animais, pela sua disponibilidade na busca de solução para as dificuldades no biotério.

Ao Senhor JOSÉ IVAN RODRIGUES DE SOUSA, Técnico em Laboratório do Departamento de Morfologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, pela confecção das lâminas.

À Senhora MARIA SILVANDIRA FRANÇA, Técnica em laboratório do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, pela sua disponibilidade e colaboração durante a execução desse trabalho.

Ao Senhor FRANCISCO EVANIR GONÇALVES DE LIMA, funcionário da Unidade de Farmacologia Clínica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, pela colaboração na execução dos ensaios metabólicos.

À Senhora NORMA DE CARVALHO LINHARES, bibliotecária da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, pela confecção da ficha catalográfica.

Às minhas filhas, CAROLINA E MARINA MURAD REGADAS, pela aceitação da minha ausência. Um dia poderão compreender melhor.

Aos Professores da Pós-Graduação *Stricto Sensu* do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, pela qualidade e empenho com que ministraram as disciplinas.

Às empresas Nutrimed Industrial Ltda. e B.V. Representação, Comercio, Industria e Exportação Ltda., pela doação das fibras e frutooligossacarídeos utilizados neste trabalho.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 -	Delineamento do experimento.....	25
FIGURA 2 -	Infusão intragástrica com cânula.....	26
FIGURA 3 -	Desenho esquemático da peça.....	29
FIGURA 4 -	Segmento colorretal com a fita marcada para orientação da ressecção da peça.....	29
FIGURA 5 -	Segmento colorretal aberto no sentido longitudinal . Rato do subgrupo ESC1 no 7º dia de avaliação.....	29
FIGURA 6 -	Segmento colorretal aberto no sentido longitudinal. Mucosa íntegra. Rato do subgrupo ESC2 no 7º dia de avaliação.....	41
FIGURA 7 -	Fotomicrografia de corte longitudinal do segmento colorretal. Observa-se mucosa com criptas de LieberKühn íntegra, apresentando abundância de células caliciforme (seta); muscular da mucosa (mm); submucosa (s) e muscular circular (mc) e longitudinal (ml). HE 40X. Rato subgrupo ESC1 no 7º dia de avaliação.....	41
FIGURA 8 -	Média da relação peso do colo (mg)/tamanho do colo (cm) em ratos que receberam água, fibra solúvel ou FOS, submetidos à indução da colite por TNBS, avaliados no 7 e 14º dias após indução.....	43
FIGURA 9 -	Segmento colorretal aberto no sentido longitudinal. Rato do subgrupo EC2 no 7º dia de avaliação.....	44
FIGURA 10 -	Segmento colorretal aberto no sentido longitudinal. Rato do subgrupo EC3 no 7º dia de avaliação.....	44
FIGURA 11 -	Segmento colorretal aberto no sentido longitudinal. Rato do subgrupo EC1 no 14º dia de avaliação.....	45
FIGURA 12 -	Segmento colorretal aberto no sentido longitudinal. Rato do subgrupo EC3 no 14º dia de avaliação.....	45
FIGURA 13 -	Fotomicrografia de corte longitudinal do segmento colorretal. Observa-se perda total da arquitetura de mucosa com ausência de células caliciforme, com áreas de necrose (setas) e infiltrado celular inflamatório acentuado ao longo de toda parede. HE 40X (a), 100X (b). Rato subgrupo EC1 no 7º dia de avaliação.....	46
FIGURA 14 -	Fotomicrografia de corte longitudinal do segmento colorretal. Observa-se recuperação da arquitetura de mucosa. Porém, ainda, está presente áreas de lesão com espessamento da parede e infiltrado celular. HE 40X (a), 100X (b). Rato subgrupo EC2 no 14º dia de avaliação.....	47
FIGURA 15 -	Média da evolução do peso (g) dos animais entre o início e término do experimento em ratos que utilizaram água,	

	submetidos à aplicação transanal de água ou indução da colite por TNBS avaliados no 7º e 14º dias	49
FIGURA 16 -	Média da relação peso do colo (mg) / tamanho do colo (cm) em ratos que utilizaram água, submetidos à aplicação transanal de água ou indução da colite por TNBS avaliados no 7º e 14º dias	50
FIGURA 17 -	Média dos escores macroscópicos para análise de achados inflamatórios em fragmentos colorretais de ratos que utilizaram água, submetidos à aplicação transanal de água ou indução da colite por TNBS avaliados no 7º e 14º dias após indução..	51
FIGURA 18 -	Média dos escores Microscópico para análise de sinais Inflamatórios em cortes histológicos corados por HE de fragmento provenientes de ratos que utilizaram água, submetidos à aplicação transanal de água ou indução da colite por TNBS avaliados no 7º e no 14º dias após indução.....	52
FIGURA 19 -	Média das concentrações do acetoacetato ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido colônico <i>in vivo</i> de ratos que receberam água, fibra solúvel ou FOS, submetidos à aplicação transanal de água e avaliados no 7º e 14º dias após aplicação	54
FIGURA 20 -	Média das concentrações do piruvato ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido colônico <i>in vivo</i> de ratos que receberam água, fibra solúvel ou FOS, submetidos à aplicação transanal de água e avaliados no 7º e 14º dias após aplicação	56
FIGURA 21 -	Média das concentrações de ATP ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido colônico <i>in vivo</i> de ratos submetidos à aplicação transanal de água que receberam água, fibra solúvel ou FOS avaliados no 7º e 14º dias após aplicação	58
FIGURA 22 -	Média das concentrações do piruvato ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido colônico <i>in vivo</i> de ratos submetidos a indução da colite por TNBS que receberam água, fibra ou FOS, avaliados no 7º e 14º dias após indução	60
FIGURA 23 -	Média das concentrações de ATP ($\mu\text{mol/ml}$ de tecido) no tecido colônico <i>in vivo</i> de ratos submetidos a indução da colite por TNBS que receberam água, fibra ou FOS avaliados no 7º e 14º dias após indução	62
FIGURA 24 -	Média das concentrações dos corpos cetônicos ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido colônico <i>in vivo</i> de ratos que receberam água e submetidos à aplicação transanal de água ou indução da colite por TNBS avaliados no 7º e 14º dias após indução	64
FIGURA 25 -	Média das concentrações de piruvato ($\mu\text{mol/ml}$ de tecido) no tecido colônico <i>in vivo</i> de ratos que receberam água e submetidos à aplicação transanal ou indução da colite por TNBS avaliados no 7º e 14º dias após indução	66
FIGURA 26 -	Média da relação das concentrações [acetoacetato]/[3-hidroxibutirato] ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido colônico <i>in vivo</i> de ratos que receberam água e submetidos à aplicação transanal de água e indução da colite por TNBS avaliados no 7º e 14º dias após indução	68
FIGURA 27 -	Média da relação das concentrações [piruvato]/[actato] ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido colônico <i>in vivo</i> de ratos que receberam água e submetidos à aplicação transanal de água ou indução da	

colite com TNBS avaliados no 7º e 14º dias após indução

70

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 -	Relação peso do colon (mg)/tamanho do colo (cm) em ratos que receberam água, fibra solúvel ou FOS, submetidos à indução da colite por TNBS, avaliados no 7º e 14º dias após indução	43
TABELA 2 -	Evolução do peso (g) dos animais entre o início e término do experimento em ratos que utilizaram água, submetidos aplicação transanal de água ou indução da colite por TNBS avaliados no 7º e 14º dias.....	49
TABELA 3 -	Relação peso do colon (mg)/tamanho do colo (cm) em ratos que utilizaram água, submetidos à aplicação transanal de água ou indução da colite por TNBS avaliados no 7º e 14º dias	50
TABELA 4 -	Escores macroscópico dos achados inflamatórios em fragmento colorretais de ratos que utilizaram água, submetidos à aplicação transanal de água ou indução da colite por TNBS avaliados no 7º e 14 dias após indução	51
TABELA 5 -	Escores microscópico dos achados inflamatórios em cortes histológicos corados por HE de fragmento provenientes de ratos que utilizaram água, submetidos à aplicação transanal de água ou indução da colite por TNBS avaliados no 7º e no 14º dias após indução	52
TABELA 6 -	Concentrações do acetoacetato ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico <i>in vivo</i> de ratos que receberam água, fibra solúvel ou FOS, submetidos à aplicação transanal de água e avaliados no 7º e 14º dias após aplicação	54
TABELA 7 -	Concentrações do piruvato ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico <i>in vivo</i> de ratos que receberam água, fibra solúvel ou FOS, submetidos à aplicação transanal de água e avaliados no 7º e 14º dias após aplicação	56
TABELA 8 -	Concentrações de ATP ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico <i>in vivo</i> de ratos submetidos à aplicação transanal de água que receberam água, fibra solúvel ou FOS avaliados no 7º e 14º dias após aplicação	58
TABELA 9 -	Concentrações do piruvato ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico <i>in vivo</i> de ratos submetidos a indução da colite por TNBS que receberam água, fibra ou FOS, avaliados no 7º e 14º dias após indução	60
TABELA 10 -	Concentrações de ATP ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico <i>in vivo</i> de ratos submetidos a indução da colite por TNBS que receberam água, fibra ou FOS avaliados no 7º e 14º dias após indução	62
TABELA 11 -	Concentrações dos corpos cetônicos ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico <i>in vivo</i> de ratos que receberam água e submetidos à aplicação transanal de água ou indução da colite por TNBS avaliados no 7º e 14º dias após indução	64
TABELA 12 -	Concentrações de piruvato ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico <i>in vivo</i> de ratos que receberam água e submetidos a injeção aplicação transanal ou indução da colite por TNBS avaliados no 7º e 14º dia após indução	66

TABELA 13 -	Relação das concentrações acetoacetato/3-hidroxi- butirato ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico <i>in vivo</i> de ratos que receberam água e submetidos à aplicação transanal de água ou indução da colite por TNBS avaliados no 7º e 14º dias após indução	68
TABELA 14 -	Relação das concentrações piruvato/lactato ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico <i>in vivo</i> de ratos que receberam água e submetidos aplicação transanal de água ou indução da colite por TNBS avaliados no 7º e 14º dias após indução	70

LISTA DE ABREVIATURAS

- AcetilCoA – Acetil coenzima A
- ADP- Adenina-Difosfato
- ATP - Trifosfato de Adenosina
- DC – Doença de Crohn
- DDO – Diferença de densidade óptica
- EDTA – Ácido etileno-diamino tetracético
- FOS – frutooligossacarídeos
- GEC- Grupo Estudo Sem Colite
- GEC1- Grupo Estudo Sem Colite (Água)
- GEC 2 - Grupo Estudo Sem Colite (Fibra)
- GEC 3 - Grupo Estudo Sem Colite (FOS)
- GESCC – Grupo Estudo Com Colite
- GESCC 1 – Grupo Estudo Com Colite (Água)
- GESCC – Grupo Estudo Com Colite (Fibra)
- GESCC – Grupo Estudo Com Colite (FOS)
- H⁺- Hidrogênio iônico
- MPO - Mieloperoxidase
- NAD- Nicotinamida-Adenina-Dinucleotídeo
- NADH- Nicotinamida-Adenina-Dinucleotídeo ligada com hidrogênio
- NADP (nicotinamida-dinucleotídeo-fosfato).
- NADPH (nicotinamida-dinucleotídeo-fosfato ligado com o hidrogênio)
- RCUI - Retocolite Ulcerativa Inespecífica
- TNBS - Ácido trinitrobenzeno Sulfônico
- TNF- α – Fator de Necrose Tumoral-alfa

RESUMO

Efeitos da suplementação com fibra solúvel ou frutooligossacarídeos sobre a inflamação e o metabolismo no colo normal ou na vigência de colite induzida por ácido trinitrobenzeno sulfônico, em ratos. **STHELA MARIA MURAD REGADAS. Pós-Graduação *Stricto Sensu*, Departamento de Cirurgia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará (Grau de Doutor em Cirurgia). Dezembro, 2004. Orientador: Prof. Dr. Lusmar Veras Rodrigues.**

O objetivo desse estudo foi verificar o efeito da suplementação intragástrica com fibra solúvel e prebiótico (frutooligossacarídeos - FOS), do ponto de vista inflamatório e metabólico, no tecido cólico normal ou na vigência da colite induzida por ácido trinitrobenzeno sulfônico (TNBS), em ratos. Foram usados 96 ratos da linhagem Wistar, machos, com peso médio de 300g. Foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos, com 48 animais. Um Grupo Estudo Sem Colite (GESC) submetido à aplicação transanal de água ou outro Grupo Estudo Com Colite (GEC) induzida por TNBS, 20 mg mais etanol à 50%. Cada grupo foi redistribuído em 3 subgrupos, de acordo com a substância utilizada por infusão intragástrica: 1(Água), 2(Fibra solúvel) e 3(FOS). Todos os animais receberam essas soluções durante 14 dias antes da aplicação transanal de água ou da indução da colite, até o dia determinado para eutanásia (7º e 14º dias). Foram realizadas avaliações do peso dos animais, relação peso/tamanho do colo, escores macroscópicos e microscópicos, e dosagens de metabólitos no tecido cólico *in vivo* (concentrações de corpos cetônicos [3-hidroxibutirato, acetoacetato], piruvato, lactato, ATP e relação [acetoacetato]/[3-hidroxibutirato] e [piruvato]/[lactato]. Foram avaliados o GESC, GEC, e os subgrupos água, do grupo sem colite (ESC1) e com colite (EC1). Não houve alterações significantes nos diversos parâmetros inflamatórios avaliados no GESC. No GEC, houve aumento na relação peso do colo/comprimento do colo no subgrupo FOS, no 14º dia ($p < 0,05$). Com relação ao peso dos animais, os do subgrupo GEC1, apresentaram redução significativa no 7º dia. Houve aumento na relação peso/tamanho do colo, no escores macro e microscópico no subgrupo GEC1 no 7º e 14º dias ($p < 0,05$). Quanto à avaliação metabólica, no GESC foi evidenciado aumento nas concentrações de acetoacetato no subgrupo fibra solúvel no 14º dia ($p < 0,05$). Houve redução nas concentrações de piruvato no subgrupo fibra solúvel e FOS no 14º dia ($p < 0,05$). As concentrações de ATP foram reduzidas nos subgrupos fibra solúvel e FOS, no 7º e 14º dias ($p < 0,05$). No GEC, as concentrações do piruvato apresentaram-se elevadas no subgrupo fibra solúvel, no 14º dia ($p < 0,05$). As concentrações de ATP diminuíram nos subgrupos fibra solúvel e FOS ($p < 0,05$). Comparando os subgrupos GESC1 com GEC1, houve elevação nas concentrações dos corpos cetônicos no GEC1 no 7º dia ($p < 0,05$). Houve redução nos níveis de piruvato no GEC1 no 7º e 14º dias ($p < 0,05$). Observou-se redução nas relações [acetoacetato]/[3-hidroxibutirato] e [piruvato]/[lactato] no GEC1, no 7º dia

($p < 0,05$). Conclui-se, portanto, que a suplementação intragástrica com fibra solúvel ou com FOS, não alteram os parâmetros inflamatórios avaliados no 7º e 14º dias, nos colos normais ou na vigência de colite, porém eleva a oferta de precursores para produção de energia, alterando as concentrações *in vivo* de ATP, tanto no tecido cólico normal, como na vigência da colite.

Descritores: Colite, Fibra na dieta, Rato, colo / Metabolismo

ABSTRACT

Metabolic and inflammatory evaluation in fiber and fructooligosaccharides supplemented diet in normal colon and trinitrobenzene sulphonic acid-induced colitic rats. **STHELA MARIA MURAD REGADAS. *Stricto Sensu* Post-Graduation. Department of Surgery, Medical School, Federal University of Ceara (Doctor in Surgery). December, 2004. Advisor: Prof. Dr. Lusmar Veras Rodrigues**

The aim of this study was research the metabolic and inflammatory findings in normal colon and trinitrobenzene sulphonic acid-induced (TNBS) colitic rats which received soluble fiber and fructooligosaccharides-FOS. Ninety six Wistar male rats were used, average weight 300g. They were distributed in two groups, of 48 animals each. One group with animals without colitis (GESC) submitted to transanal water enema and another group with colitis (GEC) produced by TNBS, 20mg. Each group was distributed into three subgroups, according to the used substance: 1(water), 2(soluble fiber), 3(FOS). All the animals received 3 ml such substances twice daily into the stomach through an intragastric catether during 14 days before the transanal water enema and the colitis production until the euthanasia day (7th and 14th. Days). The animals were evaluated concerning to the weight, colon weight/size relationship, macroscopic and microscopic scores and the metabolites colon *in vivo* concentrations (ketone bodies [3-hydroxybutirate, acetoacetate], piruvate, lactate and ATP). The cell redox estate was also evaluated by the [acetoacetate]/[3-hydroxybutirate] and [piruvate]/[lactate] relationship. GESC and GEC were evaluated, equally the subgroups water from the group without colitis (ESC1) comparing to the colitis group (EC1). No significant differences were found in the various inflammatory evaluated parameters in GESC group. An increased colon weight/size relationship was found in GEC group in the subgroup FOS, on the 14th day ($p < 0,05$). Concerning to the animals weight from the subgroup GEC1, a significant decreasing was found on the 7th day. An increased colon weight/size relationship was found in macroscopic and microscopic scores in the subgroup GEC1 on the 7th and 14th days ($p < 0,05$). Concerning to the metabolic evaluation, an increased acetoacetate concentration was found in GESC, in the fiber subgroup on the 14th day ($p < 0,05$). Decreased piruvate concentrations in the fiber and FOS subgroups were demonstrated on the 14th day ($p < 0,05$). The ATP concentrations were reduced in the fiber and FOS subgroups on the 7th and 14th days ($p < 0,05$). The piruvate concentrations were increased in GEC group, in the fiber subgroup, on the 14th day ($p < 0,05$). The ATP concentrations decreased in the fiber and FOS subgroups ($p < 0,05$). Comparing the subgroups GESC1 with GEC1, an increased cetonic corps concentration was found in GEC1 on the 7th and 14th days ($p < 0,05$). There was reduction of piruvate levels in GEC1 on the 7th and 14th days ($p < 0,05$). There was also reduction in acetoacetate/3-hidroxibutirate and piruvate/lactate relationship in GEC1, on the 7th day ($p < 0,05$). It's concluded that the soluble fiber or FOS intragastric intake doesn't change the evaluated inflammatory parameters on the 7th and 14th days in normal colons or

during colitis process, but it increases the precursors offering for energy production, modifying the ATP *in vivo* concentrations in normal colonic tissue and during colitis process.

Key-words: colitis, diet in fiber, rat, colon / Metabolism.

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE ABREVIATURAS

1	INTRODUÇÃO.....	17
2	OBJETIVO.....	24
3	MÉTODO.....	25
4	RESULTADOS.....	40
5	DISCUSSÃO.....	71
6	CONCLUSÃO.....	90
7	REFERÊNCIAS	91

APÊNDICE

A-	PROTOCOLO.....	102
B-	TABELAS.....	105
C-	FÍGURAS.....	127
	ANEXO.....	132

1. INTRODUÇÃO

A retocolite ulcerativa inespecífica (RCUI) e a doença de Crohn (DC) constituem as principais afecções inflamatórias intestinais inespecíficas. São caracterizadas por inflamação aguda ou crônica recorrente do trato digestório, com formas variadas de apresentação clínica. O processo inflamatório na RCUI inicia-se geralmente no reto, estendendo-se proximalmente, envolvendo a mucosa e submucosa do colo em intensidade variada. Na análise microscópica, podem ser evidenciados acúmulos de células T, células plasmáticas e neutrófilos os quais podem migrar do epitélio para o lúmen da cripta constituindo os abscessos em criptas, característicos da RCUI (SPARBERG, 1984; SPILIADS; LENNARD-JONES, 1987; HABR-GAMA; TEIXEIRA; BRUNETTI NETO, 1994; MUELLER, 2002).

Com relação à DC, qualquer segmento do trato digestório pode ser acometido, embora seja mais freqüente no íleo terminal. O processo inflamatório pode envolver todas as camadas da parede intestinal, apresentando-se de forma descontínua, com áreas de mucosa íntegra podendo evoluir para ulceração de formas diversas e exuberantes, além de fissuras e fistulas. A infiltração de neutrófilos, células plasmáticas e linfócitos é uma constante. A formação de granuloma pode ocorrer em aproximadamente 60% dos casos (TEIXEIRA; HABR-GAMA; PINOTTI, 1994; STEINWURZ, 1998; MUELLER, 2002).

A fisiopatogenia das doenças inflamatórias intestinais inespecíficas não está claramente definida já que inúmeros fatores estão implicados, como susceptibilidade genética, fatores psicossociais, dietéticos, infecção bacteriana, viral e principalmente mecanismos imuno-reguladores (BARGEN, 1924; BROBERGER, 1964; HABR-GAMA; TEIXEIRA; BRUNETTI NETO, 1994; TEIXEIRA; HABR-GAMA; PINOTTI, 1994; STEINWURZ, 1998). Estudos mais recentes demonstraram alterações no mecanismo imunológico à custa de respostas imunes desreguladas, contribuindo para iniciar e perpetuar a inflamação (MUELLER, 2002). São evidenciadas alterações entre citocinas pró-inflamatórias e antiinflamatórias (ROGLER; ANDUS, 1998; SCHREIBER, 1998). Dentre as citocinas pró-inflamatórias, o fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α) tem sido reconhecido exercendo importante papel na modulação (iniciação e amplificação) da resposta

inflamatória (GUIMBAUD et al., 1998; SCHREIBER, et al., 1999). É produzido pelos monócitos, macrófagos e mastócitos no primeiro estágio da inflamação (JUNG et al., 1995). O seu mecanismo de ação é complexo, podendo envolver atividade de enzimas (óxido nítrico sintetase, fosfolipase A2, ciclooxygenase e protease), adesão molecular e produção de outras citocinas (interleucina 2, interleucina 10 e interferon) (MUELLER, 2002).

O tratamento e controle definitivos das doenças inflamatórias intestinais inespecíficas ainda constituem um desafio às pesquisas científicas. A necessidade permanente de estudos dessas afecções fez surgir diversos modelos de colite que visam, sobretudo esclarecer o mecanismo etiopatogênico e estabelecer a base definitiva de um tratamento clínico eficaz, por possibilitar o teste de novas drogas (KIRSNER, 1961; WATT; MARCUS, 1973; MACPHERSON; PFEIFFER, 1976 e 1978; CEREDIG, HENDERSON; NAIRN, 1977; OKAYASU et al., 1990; TAUROG et al., 1993; ELSON et al., 1995). Morris et al. (1989) propuseram um modelo de colite difusa induzida por ácido trinitrobenzeno sulfônico (TNBS), diluído em etanol a 50%, administrado por via retal em ratos e que pode ser reproduzido em 100% dos casos. A lesão inflamatória é inicialmente produzida pela ação do álcool, um potente pró-inflamatório, que quebra a barreira mucosa do colo e altera a permeabilidade. Já, o TNBS é metabolizado pelas enzimas dos colos produzindo reação imunomediada liberando citocinas pró-inflamatória e substâncias citotóxica. Esse modelo produz inflamação aguda ou crônica de acordo com a dose do TNBS a ser administrada e assemelha-se doença de Crohn e a retocolite ulcerativa. A intensidade da resposta inflamatória pode ser evidenciadas pelo aumento de peso do colo, da avaliação macroscópica, microscópica, atividade da mieloperoxidase (MPO) (enzima contida nos grânulos azurófilos dos neutrófilos) e concentração de TNF- α (YAMADA et al., 1992; BOBIN-DUBIGEON et al., 2001).

Diversos medicamentos e medidas de suporte nutricionais são utilizados de forma limitada no tratamento das doenças inflamatórias intestinais. Entre as substâncias mais estudadas, destacam-se os derivados salicilatos (SVARTZ, 1942; SCHRÖDER; CAMPBELL, 1972; PEPPERCORN; GOLDMAN, 1972 e 1973; DAS et al. 1974; IRELAND; JEWELL, 1990; HERZOG; LEUSCHNER, 1995; VAN ASSCHE et al., 2002; SIEBOLD, 2003), corticosteroides (MODIGLIANI, 1999; NICOLAUS; FOLSCN; SCHREIBER, 2000; PANES et al., 2000; KATZ, 2004), e imunossupressores (FRASER; ORCHARD, JEWELL, 2002; ORTIZ et al., 2000;

CASTRO et al, 2004; LOPEZ-SANROMAN et al., 2004; SANDBORN; FEAGAN, 2004). Mais recentemente, os estudos relataram resultados promissores com o uso de anticorpo anti-TNF- α (VIDELA et al., 1998; HAENS; VAN DEVENTER; VAN HOGEZAND, 1999; SANDBORN; HANAUER, 1999; HINOJOSA, 2000; BEBB; SCOTT, 2004; BERMEJO et al., 2004). No entanto, essas drogas podem apresentar vários efeitos colaterais, além de ter custo elevado.

Por outro lado, estudos mais recentes têm utilizado alternativas terapêuticas pela suplementação oral de fibras fermentáveis e polissacarídeos não-digeríveis (prebióticos) no tratamento e controle das doenças inflamatórias intestinais (FERNÁNDEZ-BANARES et al., 1999; GALANDI; ALLGAIER, 2002; KANAUCHI et al., 2002; HALLERT et al., 2003). Essas substâncias apresentam propriedades e efeitos fisiológicos importantes no trato gastrointestinal (SAKATA; YAJIMA, 1984; ARDAWI; NEWSHOLME, 1985; KRIPKE, et al., 1989).

As fibras fermentáveis e polissacarídeos não-digeríveis são metabolizados pelas bactérias dos colos e produzem os ácidos graxos de cadeia curta (acetato, propionato e butirato) os quais são absorvidos na luz intestinal e necessários para manutenção da função normal dos colonócitos (ROEDIGER, 1982a; ROYALL, 1990; SCHEPPACH, 1994).

O acetato e o propionato são absorvidos pela circulação portal e utilizados pelo fígado na lipogênese e gliconeogênese respectivamente (ROMBEAU; KRIPKE, 1990). Já o butirato é metabolizado pelas próprias células do colo e é responsável por aproximadamente 75% do aporte de oxigênio necessário para os colonócitos. Estas são as únicas células do corpo humano cujo suporte de oxigênio não é fornecido pela via sanguínea (ARDAWI; NEWSHOLME, 1985; ROMBEAU; KRIPKE, 1990). No entanto, uma pequena parte do butirato é absorvido pela circulação sanguínea e metabolizado no fígado, constituindo substratos energéticos, como glutamato e glutamina. O restante é eliminado com as fezes, aproximadamente 18-50 mmol/dia, equivalente a 60-170 mmol/l (CUMMINGS et al., 1987 b).

O butirato participa de outros mecanismos importantes na homeostase do colonócito, como as trocas hidroeletrolíticas, sendo responsável pela absorção de sódio e água (MANEIL; CUMMINGS; JAMES, 1978), produção de muco, absorção de íons e bicarbonato (FINNE et al., 1995;). Apresenta ainda efeito trófico sobre o epitélio intestinal, estimulando a proliferação tanto no jejuno, íleo como no colo. Essa atividade proliferativa ocorre na base da cripta pela oxidação do butirato em

mevalonato. Esse metabólito liga-se ao receptor da proteína G iniciando o estímulo proliferativo (SAKATA; YAJIMA, 1984; KRIPKE et al., 1989).

De modo semelhante, prebióticos, como frutooligosacarídeos (FOS), são metabolizados no intestino grosso. São utilizados como substratos para as bifidobactérias e lactobacilos, produzindo ácidos graxos de cadeia curta. Por esta razão, promovem o aumento na população dessas bactérias (não patogênicas), resultando na inibição do crescimento de bactérias patogênicas com conseqüente redução na liberação de substâncias tóxicas produzidas e diminuição no pH (GIBSON; et al., 1995a,b; LE BLAY et al., 1999; MARX; WINKLER; HARTMEIER, 2000)

Alguns estudos demonstraram que a redução de ácidos graxos de cadeia curta no colo pode produzir dano à mucosa, como na colite por desuso que ocorre devido à perda de

contato dos ácidos graxos com a mucosa. Essas alterações foram revertidas pela aplicação intraluminal de ácidos graxos (GLOTZER; GLICK; GOLDMAN, 1981; ROEDIGER, 1982; HARIG et al., 1989; MORTENSEN et al., 1991).

A aplicação de enemas de ácidos graxos ou butirato no tratamento da RCU e em modelos experimentais sugeriram que o aumento na concentração de ácidos graxos na luz intestinal poderia reparar os danos inflamatórios. No entanto, os achados são contraditórios, visto que outros estudos não os reproduziram (BREUER et al., 1991, 1997; SCHEPPACH et al., 1992, 1996a,b; SENAGORE et al., 1992; STEINHART et al., 1994, 1995 e 1996; VERNIA et al., 1995; BUTZNER et al., 1996).

Portanto, muitos estudos utilizaram como alternativa a aplicação de enemas, a suplementação oral de fibra e prebiótico, que produzem ácidos graxos de cadeia curta na luz intestinal. Tipos diferentes de fibras foram avaliados, como semente de *plantago ovata* (FERNANDEZ-BANARES et al., 1999; RODRIGUEZ-CABEZAS et al., 2002, 2003), pectina (ANDOH; BAMBA; SASAKI, 1999), amido resistente (JACOBASCH et al., 1999; MOREAU et al., 2003) e prebióticos, como “germinated barley foodstuff” (mistura insolúvel com proteínas enriquecidas com glutamina e fibra-hemicelulose), inulina e FOS (KANAUCHI et al., 1999; 2001; 2002; ARAKI et al., 2000; VIDELA et al., 2001; FUKUDA et al., 2002; CHERBUT; MICHEL; LECANNU, 2003).

O metabolismo energético cólico utiliza os ácidos graxos de cadeia curta como principal substrato para produção de energia. No entanto, esta produção energética é variável entre eles, pois a completa oxidação de 1 mol de acetato, propionato e butirato produz 10, 18 e 27 mol de ATP, respectivamente (CLAUSEN; MORTENSEN, 1995). Em indivíduos normais, a seqüência de utilização de substrato disponível para mucosa do colo é o butirato, acetato, propionato, glicose, corpos cetônicos e glutamina (ROEDIGER, 1980).

A pesquisa inicial de Roediger (1980) investigou o metabolismo cólico *in vitro*. Utilizou colonócitos isolados de portadores de RCUI comparando-o com indivíduos normais. Demonstrou redução na oxidação do butirato em CO₂ e corpos cetônicos, associado ao aumento compensatório no metabolismo da glicose e glutamina evidenciado pelas concentrações elevadas de lactato e amônia, nos portadores de RCUI.

Vernia et al. (1988) demonstraram redução na concentração dos ácidos graxos, especialmente o butirato, na amostra fecal de portadores de RCUI, associando os achados à gravidade da inflamação.

Clausen e Mortensen (1995) demonstraram que não há alterações no metabolismo dos ácidos graxos em colonócitos isolados de portadores de RCUI. Não evidenciaram aumento na oxidação da glicose.

Den Hond et al. (1998) demonstraram redução na oxidação do butirato associada à elevação de sua excreção fecal em portadores de colite aguda. Já na colite quiescente e em indivíduos sem colite, não foram demonstradas alterações no metabolismo do colonócito. Concluíram que a redução na oxidação do butirato está relacionada com o processo inflamatório intenso e não constitui um defeito primário na RCUI, pois não foi evidenciada essa alteração na fase quiescente da doença.

Jorgensen et al. (1999) evidenciaram que não ocorreram alterações na metabolização do butirato em portadores de RCUI e DC quando comparados com indivíduos normais. Esses resultados foram evidenciados pela produção inalterada de corpos cetônicos e CO₂.

Simpson et al. (2000) realizaram estudo *in vivo* avaliando as medidas de CO₂ no ar expirado, calorimetria indireta, e o quociente respiratório relacionado ao peso e à idade. Demonstraram que não há alterações no metabolismo em portadores de RCUI quiescente.

Ahmad et al. (2000), estudando modelo de colite por sulfato sódico de dextrano, demonstraram redução no metabolismo do butirato associado à elevação na oxidação da glicose e nos níveis de lactato. Paralelamente, foram observadas reduções na produção de CO₂ e corpos cetônicos, especialmente do beta-hidroxibutirato, sugerindo redução na beta-oxidação do butirato.

Rodriguez-Cabezas et al. (2003) realizaram estudo *in vitro*, utilizando colonócitos isolados de modelo de colite com ratos transgênicos HLA-B27. Evidenciaram redução na concentração do butirato quando comparado com grupo controle. No entanto, quando os animais receberam suplementação com fibra (semente de *plantago ovata*), ocorreu aumento nas concentrações de butirato e propionato.

Moreau et al. (2004) avaliaram modelos de colite por sulfato sódico de dextrano e utilizaram suplementação com dieta basal e amido resistente. Observaram que na fase aguda da colite, não ocorreu alteração na captação do butirato e sua metabolização em CO₂, inclusive no grupo suplementado com amido resistente. Este fato resultou em aumento na concentração do butirato no ceco. Já na fase crônica, esse mesmo grupo apresentou elevação na captação do butirato, quando comparado com o grupo que utilizou dieta basal.

Portanto, vê-se que os estudos existente na literatura utilizaram amostras e métodos de avaliação distintos. Alguns são realizados *in vitro* utilizando colonócito isolado e incubado adicionando ácidos graxos de cadeia curta e glicose como substrato energético (ROEDIGER, 1980; CLAUSEN; MORTENSEN, 1995; JORGENSEN; MORTENSEN, 1999, 2001; RODRIGUEZ-CABEZAS et al., 2003). Já, outros realizaram estudos *in vivo* aferindo medidas do CO₂ no ar expirado e calorimetria indireta, ou ainda, medidas das concentrações de butirato, corpos cetônicos e CO₂ no sangue arterial e venoso ou no conteúdo cólico (DE HOND et al., 1998; JACOBSCHE et al., 1999; SIMPOSON et al., 2000; MOREAU et al., 2004). Tal fato dificulta a interpretação dos achados, assim como o delineamento do metabolismo cólico na vigência da colite, havendo, portanto, necessidade de novos estudos.

Visto que as pesquisas não têm consenso com relação aos benefícios das fibras solúveis e prebióticos, quanto à avaliação inflamatória e metabólica, tanto na doença inflamatória intestinal como na colite, em modelos experimentais, tornou-se necessário novos estudos buscando demonstrar, o efeito da fibra solúvel e prebiótico no colo *in vivo*.

2 OBJETIVO

Verificar o efeito da suplementação intragástrica com fibra solúvel e prebiótico (frutooligossacarídeos - FOS), do ponto de vista inflamatório e metabólico, no tecido cólico normal ou na vigência da colite induzida por ácido trinitrobenzeno sulfônico (TNBS), em ratos.

3. MÉTODO

AMOSTRA

Foram utilizados 96 ratos (*Rattus norvegicus albinus*, *Mammalia Rodentia*, *Muridae*) da linhagem Wistar, machos, adultos, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará. O peso dos animais variou de 270 a 320 g (média = 300 g).

Os animais foram mantidos no laboratório de Cirurgia Experimental do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará em número de quatro por gaiola de polipropileno com tampa de arame galvanizado com zinco, forradas com maravalhas. Permaneceram alojados em condições adequadas, umidade relativa do ar em torno de 50 %, a temperatura média de 25° C, iluminação e ventilação adequadas. Receberam água e ração *ad libitum*.

Durante o período de 15 dias de adaptação, todos os animais foram previamente tratados com anti-helmíntico.

DELINEAMENTO DO EXPERIMENTO

A pesquisa foi realizada de acordo com as Normas Internacionais para Pesquisa Biomédica em Animais (Consejo de Organizaciones Internacionales de Ciências Médicas, 1990) e de acordo com a Lei Federal nº. 6.638 que estabelece normas para prática didático-científica da vivisseção de animais, de 8 de maio de 1979.

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos contendo 48 animais cada: Um grupo Estudo Sem Colite (GESC) e um grupo Estudo Com Colite induzida (GEC). Ambos foram redistribuídos em três subgrupos, conforme a substância recebida. Todos foram identificados e pesados previamente.

Grupo Estudo Sem Colite (GESC) – Os animais receberam diferentes soluções por infusão intragástrica em duas administrações diárias de 3 ml cada, num intervalo de 4 horas, durante 14 dias. No 14º dia, foram submetidos à aplicação de água, por cateter, via transanal, num volume de 0,8 ml. Continuaram recebendo as soluções por infusão intragástrica diárias até os dias estabelecidos para eutanásia. Foram redistribuídos em 3 subgrupos contendo 16 animais cada de acordo com a solução utilizada para infusão intragástrica:

Subgrupo ESC1 (Água) (Controle)– Recebeu água potável num volume de 3 ml em duas administrações diárias.

Subgrupo ESC2 (Fibra solúvel)– Recebeu solução contendo 1 g de fibra 100% solúvel (“Benefiber”®-goma guar), em duas administrações diárias. Cada grama foi diluída em 3ml de água potável.

Subgrupo ESC3 (FOS)– Recebeu solução contendo 1g de frutooligossacarídeos (FOS) (Nutraflora®), em duas administrações diárias. Cada grama foi diluída em 3 ml de água potável.

Grupo Estudo Com Colite (GEC) – Os animais receberam diferentes soluções por infusão intragástrica em duas administrações diárias de 3 ml cada, num intervalo de 4 horas, durante 14 dias. No 14º dia, foram submetidos à indução de colite por aplicação de ácido trinitrobenzeno sulfônico (TNBS) (Sigma-Aldrich-Brasil), 20 mg diluídas em álcool a 50 %, num volume de 0,8 ml por cateter via transanal. Continuaram recebendo as soluções por infusão intragástrica diárias até os dias estabelecidos para eutanásia. Foram redistribuídos em 3 subgrupos de acordo com a solução utilizada para infusão intragástrica.

Subgrupo EC1 (Água) (controle)– Recebeu água potável num volume de 3 ml. em duas administrações diárias.

Subgrupo EC2 (Fibra solúvel)– Recebia solução contendo 1 g de fibra 100% solúvel ("Benefiber"®-goma guar), em duas administrações diárias. Cada grama era diluída em 3 ml de água potável.

Subgrupo EC3 (FOS)– Recebia solução contendo 1 g de frutooligossacarídeos (FOS) (Nutraflora®), em duas administrações diárias. Cada grama era diluída em 3 ml de água potável.

Além das soluções por infusão intragástrica, todos os animais continuaram recebendo água potável e ração *ad libitum*, diariamente.

Cada sub-grupo de 16 animais foi redistribuído em dois outros sub-grupos contendo 8 animais cada, conforme as datas escolhidas para a eutanásia. Foram estabelecidos os dias 7 e 14 após aplicação de água potável por via transanal (GESC) e a indução da colite por TNBS (GEC), para a eutanásia dos animais, correspondendo ao 21º e 28º dia após o início da suplementação intra-gástrica de fibra solúvel e FOS. Neste dia, os animais foram submetidos à laparotomia exploradora para ressecção do segmento colorretal destinado à avaliação inflamatória e metabólica. (Figura 1)

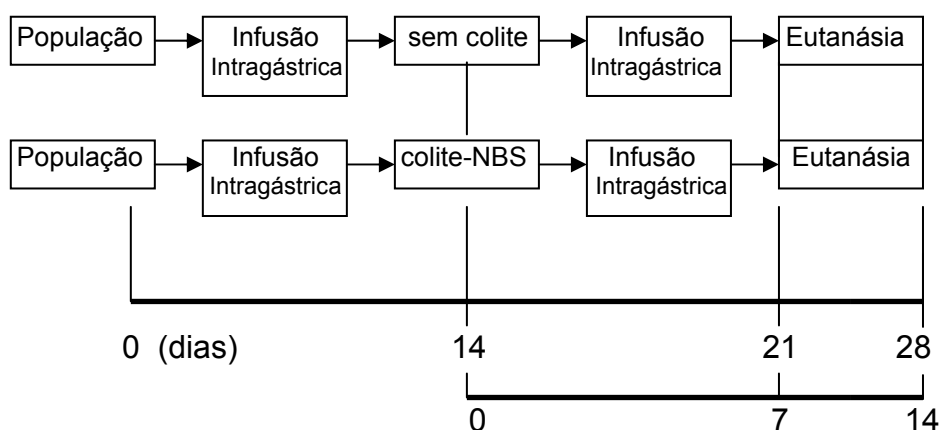


Figura 1 – Delineamento do experimento. Distribuição nos grupos sem colite e com colite, conforme as datas da eutanásia

PESAGEM DOS ANIMAIS

Todos os animais foram pesados pelo mesmo examinador e utilizando a mesma balança (balança analítica Ohaus AS 2600) no início do experimento, e nos dias determinados para a eutanásia (7º e 14º dias após a aplicação transanal de água ou indução da colite, correspondendo ao 21º e 28º dias de suplementação com fibra solúvel e FOS).

INFUSÃO INTRAGÁSTRICA

Todos os animais receberam água ou as soluções estudadas por infusão intragástrica utilizando um cateter de polietileno nº 6 Fr orogástrico, com 11 cm de extensão, sendo introduzido por uma cânula previamente desenvolvido para facilitar o procedimento.

A cânula foi confeccionado a partir de um protetor de jelco com as duas extremidades abertas, sendo acoplado a pinça tipo dissecação e preso por uma liga elástica em uma das extremidades (Figura 2).



Figura 2 – Infusão intragástrica com cânula

TÉCNICA ANESTÉSICA

Os animais foram anestesiados com vapor de éter dietílico sob campânula de acrílico semifechada, contendo chumaço de algodão embebido em éter. A profundidade da anestesia foi avaliada por parâmetros clínicos e autonômicos como respiração, frequência cardíaca, relaxamento da musculatura das patas, perda do reflexo palpebral. A anestesia foi mantida com máscara de éter dietílico em ar ambiente e respiração espontânea.

APLICAÇÃO DE ÁGUA TRANSANAL

Os animais do grupo estudo sem colite foram submetidos à aplicação transanal de água potável após 14 dias do início das gavagens.

Preparo do Colo- Permaneceram 12 horas recebendo somente água *ad libitum*. Foram submetidos à limpeza do colo por enema de 20 ml de solução salina a 0,9%, 1 hora antes da aplicação da água. Para tanto, utilizou-se cateter de polietileno nº 6 Fr, introduzida até 8 cm da margem anal.

Procedimento - Os animais foram previamente anestesiados e posicionados em decúbito lateral esquerdo. Foi introduzido, por via retal, cateter de polietileno nº 4 Fr até 8 cm da margem anal para injeção de 0,8 ml de água. O animal permanecia de cabeça para baixo, suspenso pela cauda por 30 segundos para evitar o retorno da solução.

INDUÇÃO DA COLITE

Os animais do grupo estudo com colite foram submetidos à indução da colite após 14 dias do início das gavagens.

Preparo do Colo - Permaneceram 12 horas recebendo somente água mineral *ad libitum*. Foram submetidos à limpeza do colo por enema com 20 ml de solução salina a 0,9 %, 1 hora antes do procedimento. Utilizou-se cateter retal nº 6 Fr, introduzida até 8 cm da margem anal.

Preparo da solução de TNBS com álcool (1:1) - Da solução de TNBS à 5 %, foi utilizado 0,4 ml e adicionado a 0,4 ml de álcool à 100 %. Foi preparada uma solução, com 0,8 ml, de TNBS à 20 % diluído em álcool a 50 %.

Procedimento - Os animais foram previamente anestesiados e posicionados em decúbito lateral esquerdo. Foi introduzido, por via retal, cateter de polietileno nº 4 Fr,

até 8 cm da margem anal, seguido da injeção de 0,8 ml de solução de ácido trinitrobenzeno sulfônico (TNBS) 20 mg diluídos em etanol a 50%.

O animal permaneceu de cabeça para baixo, suspenso pela cauda, por 30 segundos para evitar o retorno da solução.

PROCEDIMENTO OPERATÓRIO

A sistematização da técnica operatória evoluiu de acordo com as etapas seguintes:

- Após indução anestésica, o animal foi posicionado em decúbito dorsal sobre uma prancha de madeira e imobilizado por ligas elásticas nos membros superiores e inferiores fixando-os à prancha. Em seguida, foram submetidos à incisão mediana xifo-pubiana com abertura da cavidade peritoneal. Após identificação do reto e colos, foi isolado parte do reto e colo descendente, numa extensão de 6 cm a partir da sínfise pubiana. Desse segmento, foi seccionada uma porção anti-mesocólica central de 4 cm, estendendo-se do segundo ao quinto centímetro destinado a avaliação metabólica. Essa ressecção foi realizada com animal vivo (Figura 3 e 4).
- A peça remanescente de 6 cm (sem a borda anti-mesocólica nos 4 cm centrais) foi excisada e aberta longitudinalmente, na borda anti-mesocólica, nas suas extremidades (correspondendo do primeiro ao segundo centímetro e do quinto ao sexto), lavada com soro fisiológico e distendida sobre uma superfície plana para avaliação do escore macroscópico (Figura 5). Em seguida, o fragmento colorretal foi dobrado no sentido distal-proximal, com a mucosa disposta internamente, em forma de rocambole e mantido com fio de algodão (ZEEK; ASSALI, 1950), postos em solução de formalina a 10 %, destinado à rotina de cortes e preparo histológico. Imediatamente após, os animais foram submetidos à eutanásia por deslocamento cervical.

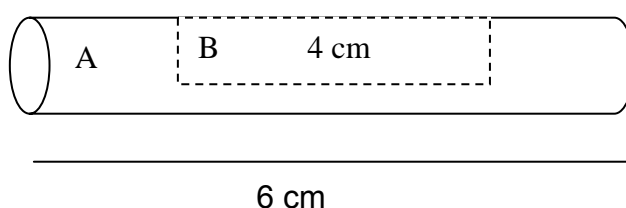


Figura 3 – Desenho esquemático da peça.

A - Segmento colorretal com 6 cm para avaliação inflamatória

B – Fragmento da borda anti-mesocólica com 4 cm para avaliação metabólica

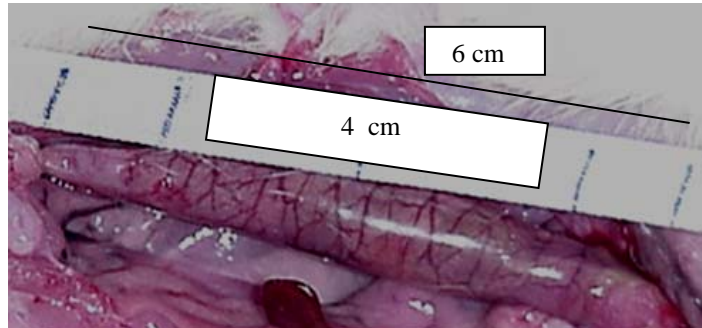


Figura 4 – Segmento colorretal com fita marcada com 6cm para orientação da ressecção da peça. Marcação de 4 cm central para orientação da ressecção do fragmento para avaliação metabólica



Figura 5 – Segmento colorretal aberto no sentido longitudinal após retirado o fragmento de 4 cm da borda anti-mesocólica. Rato do subgrupo ESC1 no 7º dia de avaliação.

RELAÇÃO PESO DO COLO (mg) / COMPRIMENTO DO COLO (cm)

Foram pesados e medidos os segmentos colorretais seccionados de 6cm sempre pelo mesmo examinador, na mesma balança (balança analítica Marte AL200) (YAMADA et al., 1992)

A relação consiste:
$$\frac{\text{PESO DO COLO (mg)}}{\text{COMPRIMENTO DO COLO (cm)}}$$

AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA

O segmento colorretal foi avaliado por dois examinadores que desconheciam a que grupo pertencia o animal através de um escore (0-10) de inflamação preconizado por Morris et al. (1989).

- (0) Aparência normal;
- (1) Hiperemia local sem úlceras;
- (2) Ulceração sem hiperemia ou espessamento da parede intestinal;
- (3) Ulceração com inflamação em um sítio;
- (4) Ulceração / inflamação em dois ou mais sítios;
- (5) Lesão principal estendendo-se por 1 cm ao longo do colo;
- (6-10) quando uma área da lesão estende-se por mais de 2 cm ao longo do comprimento do colo, a quantificação é aumentada em 1 para cada centímetro adicional.

AVALIAÇÃO MICROSCÓPICA

O fragmento cólico enrolado em forma de rocambole foi fixado em formol a 10% por 6 horas. Para confecção das laminas, foi necessário reduzir a espessura do rocambole seccionando as suas bordas laterais, no sentido longitudinal e permanecendo a porção central, numa espessura de 0,4 cm. Em seguida, foi encaminhada no laboratório de Histologia do Departamento de Morfologia da Universidade Federal do Ceará. O material foi processado para inclusão em parafina. Foram realizados cortes histológicos em micrótomo na espessura de 5 micrômetros, no sentido longitudinal do espécime enrolado e submetidos a coloração pela hematoxilina e eosina.

A leitura foi realizada em microscópio de luz, à magnitude de 40, 100 e 400 por um único patologista que desconhecia a que grupo pertencia os animais.

A avaliação inflamatória seguiu um escore microscópico (0-11) utilizando os critérios abaixo relacionados (APPLEYARD e WALLACE, 1995);

- Perda da arquitetura da mucosa (0-3)
- Infiltração celular (0-3)
- Espessamento da muscular (0-3)
- Formação de abscesso em cripta (0-1)
- Ausência de células caliciformes (0-1)

AVALIAÇÃO METABÓLICA

O tecido cólico com 4 cm de extensão da borda anti-mesocólica, correspondendo do segundo ao quinto centímetro foi retirado ainda com animal vivo. Foi prensado e mergulhado em nitrogênio líquido com aproximadamente 190°C negativos (WOLLENBERG, 1960). Esta técnica reduz a temperatura do tecido para aproximadamente 80°C negativos em um período menor do que 0,1 segundos.

O tecido cólico foi transformado em pó com auxílio de um conjunto de recipientes de porcelana (grau e pistilo), sendo mantido congelado pelo acréscimo repetido de nitrogênio líquido (WILLIAMSON et al., 1967). Em seguida, foi colocado em tubos de ensaio contendo 5 ml de ácido perclórico a 10%. A imersão neste ácido inativa e precipita rapidamente as proteínas possibilitando sua remoção por centrifugação (3.000 rotações por min durante 10 min). O precipitado resultante foi desprezado e o sobrenadante com ácido perclórico (extrato ácido) foi colocado em tubos de ensaio de vidro de 10 ml previamente pesados. Esses tubos foram novamente pesados, obtendo-se desta forma o volume ácido. Um indicador universal de pH foi adicionado ao volume ácido juntamente com uma solução de Hidróxido de Potássio a 20% para ajustar o pH entre 7 e 8.

Para obtenção de um extrato neutro, os tubos foram novamente pesados e centrifugados a 3.000 rotações por minuto, durante 10 minutos e o sobrenadante (extrato neutro) foi usado para análise dos metabólitos pelo método

espectrofotômetro. As amostras foram armazenadas congeladas a 20°C negativos para melhor preservação.

DETERMINAÇÃO DOS METABÓLITOS

No presente estudo, os métodos enzimáticos foram utilizados para determinação das concentrações dos seguintes metabólitos no tecido cólico fresco: corpos cetônicos (acetoacetato, 3-hidroxibutirato), lactato, piruvato e trifosfato de adenosina (ATP). As concentrações dos metabólitos foram calculadas em $\mu\text{mol/g}$ de tecido fresco.

Realizada determinação indireta do estado redox no tecido cólico, na mitocôndria e citoplasma pelas concentrações das relações respectivamente (WILLIAMSON; LUND; KREBS, 1967):

[Acetoacetato]

[3- Hidroxibutirato]

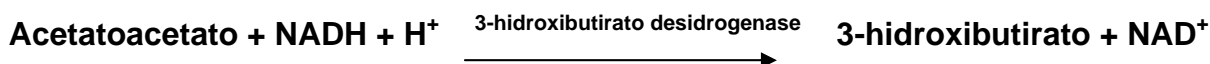
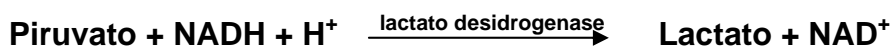
[Piruvato]

[Lactato]

DETERMINAÇÃO DO PIRUVATO E ACETOACETATO

Piruvato e acetoacetato têm condições de ensaio similares e foram medidos seqüencialmente na mesma amostra e na mesma cubeta, usando-se combinação dos métodos descritos por Hohorst citados por Vasconcelos (1987) e WILLIAMSON et al. (1962).

Seqüência da reação:



NADH- Nicotinamida-Adenina-Dinucleotídeo ligada com hidrogênio

NAD- Nicotinamida-Adenina-Dinucleotídeo

H^+ - Hidrogênio iônico

O equilíbrio da primeira reação em pH 7 é suficientemente desviada para direita, garantindo uma medida quantitativa dos níveis de piruvato. Com o mesmo pH e com o excesso de NADH compatível, pelo menos 98% do acetoacetato é reduzido para 3-hidroxiacetato. A segunda reação ocorre numa velocidade menor que a primeira devido a baixa atividade da enzima 3-hidroxiacetato desidrogenase.

A solução tampão para o ensaio consiste de :

10 ml de fosfato de potássio a 0,1M, pH6,9

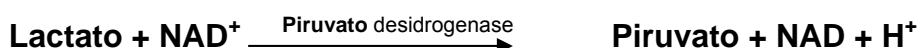
01 ml de NAD⁺ 0,5%

Uma solução fresca foi preparada para cada ensaio. O volume total de cada cubeta foi de 2 ml, consistindo de 1 ml da amostra contendo ácido perclórico (HClO₄) neutralizado e 1 ml da solução tampão. A cubeta controle continha 1 ml de água destilada e 1 ml da solução tampão. Todas as cubetas foram lidas antes, em 5 e 15 minutos após a adição de 0,01 ml da enzima lactato desidrogenase a 340 nm. Logo em seguida foram adicionados 0,01 ml da enzima 3-hidroxiacetato desidrogenase que foram novamente lidas em 25 e 30 minutos.

DETERMINAÇÃO DO L-(+)-LACTATO

As concentrações de lactato foram determinadas no tecido cólico de acordo com o método descrito por HORHOST (1963).

Seqüência da reação:



O equilíbrio desta reação ocorre no lado do lactato e NAD⁺. Para garantir a completa conversão do lactato, os produtos da reação devem ser removidos. Prótons são aprisionados por uma reação alcalina. O piruvato reage com o hidrato de hidrazina na solução tampão para formar piruvato hidrazona. Um grande excesso de NAD⁺ e enzima são usados para se obter um ponto final da reação.

Solução tampão para ensaio:

40 ml de Tris 0,2 M (Está certo?)

5 ml de Hidrato de hidrazina 100%

25 mg de EDTA

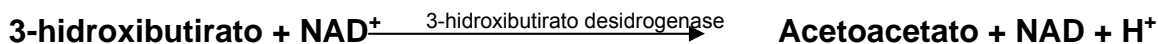
Completa-se para 100 ml com água destilada

O pH da solução foi ajustado para 9,5 com ácido clorídrico 5 M. No início do ensaio, 1 ml de NAD^+ 1% foi adicionado a cada 10 ml de solução tampão. O volume total em cada cubeta foi de 2 ml, consistindo de 0,2 ml da amostra neutralizada, 0,8 ml de água e 1 ml de solução tampão contendo NAD^+ 1%. Todas as cubetas foram lidas a 340 nm antes, 35 e 45 minutos após adição de 0,02 ml da enzima lactato desidrogenase.

DETERMINAÇÃO DA -(-)-3-HIDROXIBUTIRATO

As concentrações de 3-hidroxbutirato foram determinadas de acordo com o método descrito por WILLIAMSON et al. (1962).

Seqüência da reação:



O equilíbrio desta reação é alcançado quando 40% do 3-hidroxbutirato é oxidado para acetoacetato. A presença da hidrazina na solução tampão aprisiona o acetoacetato formado como uma hidrazona e a reação segue da esquerda para direita.

Solução tampão:

70 ml de solução tampão Tris 0,1 M em pH 8,5

25 mg de EDTA

0,25 ml de hidrato de hidrazina a 100%

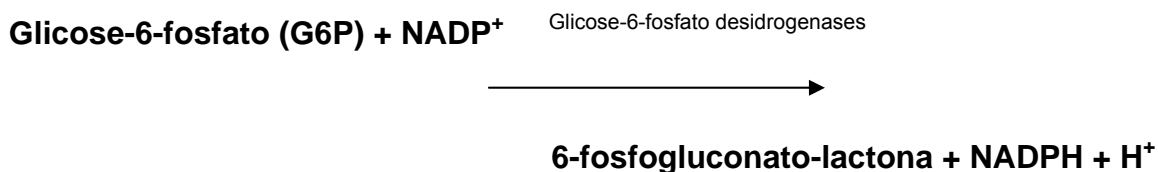
Completa-se com 100 ml de água destilada

O pH da solução tampão do ensaio foi ajustado para pH 8,5 com ácido hidrocloreto 5 M. Antes de iniciar o ensaio, foi adicionado 1 ml da NAD⁺ 1% para cada 10 ml da solução tampão. O volume total em cada cubeta foi de 2 ml, sendo 0,5 ml da amostra neutralizada, 0,5 ml de água destilada, e 1 ml da solução tampão com NAD. As cubetas foram lidas a 340 nm e 50 a 60 minutos após acrescentar 0,01 ml da enzima 3-hidroxi-butanato desidrogenase.

DETERMINAÇÃO DO TRIFOSFATO DE ADENOSINA (ATP)

As concentrações de trifosfato de adenosina (ATP) no tecido cólico foram determinadas utilizando-se uma combinação dos métodos descritos por LAMBRECHT e TRAUSHOULD (1963) e HOHORST (*Apud* VASCONCELOS, 1987), usando a mesma cubeta. A hexoquinase catalisa a fosforilação da glicose com o ATP, na presença de Mg⁺⁺, produzindo a glicose-6-fosfato. A glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) catalisa a oxidação da glicose-6-fosfato com o NADP (nicotinamida-dinucleotídeo-fosfato). Cada mol da ATP forma 1 mol de NADPH (nicotinamida-dinucleotídeo-fosfato ligado com o hidrogênio).

Seqüência da reação:



Na presença de concentrações equivalentes de glicose e Mg⁺⁺, o ATP é convertido quantitativamente pela hexoquinase em ADP (Adenosina difosfato). O equilíbrio da reação tende para direita o que garante o término completo de ambas as reações pois a glicose-6-fosfato formada na primeira reação é rapidamente consumida na reação seguinte.

Solução tampão para o ensaio:

10 ml de tampão Tris 0,1 M pH 7,4

1 mg/ml NADP

2 ml de Cloreto de magnésio (MgCl_2) 0,1 M

0,5 ml de Glicose 0,1 M

A solução foi renovada para cada ensaio. O volume total de cada cubeta foi de 2,0 ml, consistindo de 0,5 ml de extrato ácido (HClO) da amostra (colo), 0,5 ml de água destilada e 1,0 ml de solução tampão. A cubeta controle continha 1,0 ml de água destilada e 1,0 ml de solução tampão. Todas as cubetas foram lidas a 340 nm até 5 e 10 min após a adição de 0,005 ml de glicose-6-fosfato-desidrogenase. Posteriormente foram adicionados 0,005 ml de Hexoquinase e efetuadas novas leituras, passados 10 a 15 minutos.

CÁLCULOS DOS METABÓLITOS NO TECIDO CÓLICO

Todos os cálculos foram efetuados baseados nas alterações de densidade óptica, medidas a 340 nm nas amostras das cubetas de controle subtraídas dos resultados.

Em resumo:

Diferença de densidade óptica (DDO) = (Alterações na absorção da amostra na cubeta) – (Alterações na absorção na cubeta controle)

Como o coeficiente molar de extinção de NADH é $6,22 \text{ cm}^2/\mu\text{mol}$, a quantidade de substrato na cubeta é igual a $(\text{DDO} / 6,22) \times \text{volume total na cubeta}$. Este resultado é então multiplicado por um fator de diluição para cada amostra, resultando na concentração do substrato.

Os cálculos foram realizados utilizando-se as seguintes fórmulas:

R1 = Peso do tecido cólico + peso do ácido (HClO₄)

Peso do tecido cólico

R2 = Peso (volume) do extrato neutro

Peso (volume) do extrato ácido

R3 = Volume total na cubeta

Volume do extrato neutro na cubeta

R4 = Diferença de densidade óptica (DDO)

6,22

Peso do tecido cólico + HClO₄ / peso do tecido cólico (R1) X peso extrato neutro / peso do extrato ácido (R2) X volume total na cubeta / volume extrato neutro na cubeta (R3) X DDO / 6,22 (R4) = um mol do metabólito / g de tecido cólico.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram analisados por parâmetros inflamatórios e metabólicos, utilizando a análise de variância por postos de KRUSKAL-WALLIS com o objetivo de comparar os três subgrupos (água, fibra e FOS) entre si nos grupos com e sem colite nas datas estudadas (7º e 14º dias). Quando houve diferença significativa, a análise foi complementada com o teste de WILCOXON.

Em todos os teste fixou-se em 0,05 ou 5 % o nível para rejeição da hipótese de nulidade, assinalando-se com asterisco (*) os valores significantes.

4 RESULTADOS

Os resultados com significância estatística estão apresentados em tabelas e gráficos, conforme as avaliações realizadas. No entanto, aqueles sem diferenças estatística significativa estão expostos em tabelas, no apêndice B. Foram comparados os subgrupos entre si, tanto no grupo sem colite (GESC) como no grupo com colite (GEC). Foi feito estudo comparativo entre os resultados dos subgrupos que receberam água de ambos os grupos.

AVALIAÇÃO INFLAMATÓRIA

Estão apresentados os resultados da evolução do peso dos animais, a relação peso do colo / comprimento do colo, avaliação macroscópica e microscópica.

- **GRUPO SEM COLITE (GESC):** subgrupos (água, fibra solúvel e FOS) avaliados no 7º e 14º dias após aplicação de água transanal (corresponde ao 21º e 28º dias após início da suplementação com fibra solúvel e FOS).

Peso dos animais

Não houve diferença significativa entre os pesos do início e final do experimento entre os subgrupos de animais do GESC (Apêndice B-Tabela 1).

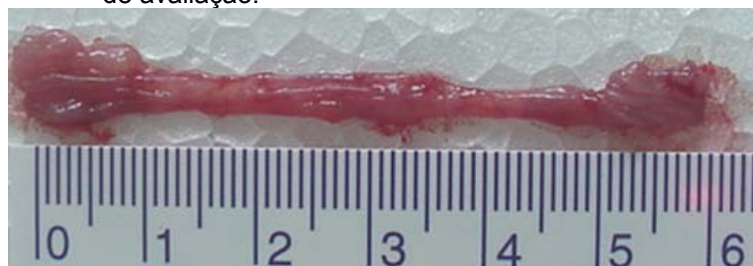
Relação peso do colo (mg) / comprimento do colo (cm)

- Não houve diferença significativa na relação peso do colo / comprimento do colo, quando comparados os três subgrupos do GESC entre si no 7º e 14º dias, após aplicação transanal de água (Apêndice B-Tabela 2 e Apêndice C-Figura 1).

Avaliação macroscópica

Não foram observadas diferenças significantes entre os escores macroscópicos, ao comparar os três subgrupos do GESC, no 7º e 14º dias após aplicação transanal de água (Apêndice B-Tabela 3, Apêndice C-Figura 2 e Figura 6).

Figura 6 – Segmento colorretal aberto no sentido longitudinal
Mucosa íntegra. Rato do subgrupo ESC2 no 7º dia de avaliação.



Avaliação microscópica

Não houve diferença significativa entre os escores microscópicos ao compararem-se os três sub-grupos no 7º e 14º dias após aplicação transanal de água (Apêndice B-Tabela 4, Apêndice C-Figura 3 e Figura 7).

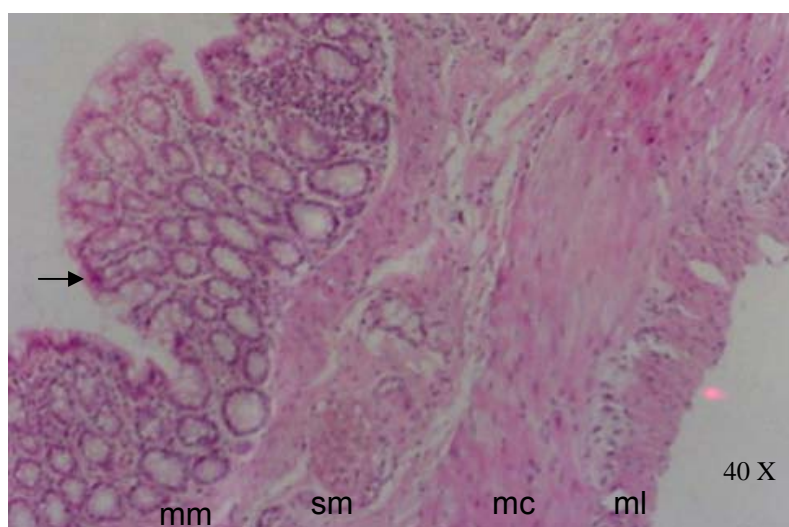


Figura 7 – Fotomicrografia de cortes longitudinais do segmento colorretal. Observa-se mucosa com criptas de LieberKühn íntegra (seta), apresentando abundância de células caliciformes; muscular da mucosa (mm); submucosa (sm) e muscular circular (mc), longitudinal (ml). HE 40X. Rato subgrupo ESC1 no 7º dia de avaliação

- GRUPO COM COLITE (GEC): subgrupos (água, fibra solúvel e FOS) avaliados no 7º e 14º dias, após indução da colite por TNBS.

Peso dos animais

Não houve alterações significantes no peso dos animais entre o início e o término do experimento, comparando-se os três subgrupos, no 7º e 14º dias, após indução da colite (Apêndice B-Tabela 5).

Relação peso do colo (mg) / comprimento do colo (cm)

Não houve alterações significantes na relação peso do colo / tamanho do colo, quando comparados os três subgrupos do GEC entre si no 7º dia após indução da colite. No entanto, observou-se aumento no peso do colo no subgrupo FOS, quando comparado com subgrupos água no 14º dia após indução (Tabela 1e Figura 8).

Tabela 1: Relação peso do colo (mg) / tamanho do colo (cm) em ratos que receberam água, fibra solúvel ou FOS, submetidos à indução da colite por TNBS, avaliados no 7 e 14º dias após indução

7º dia com colite			14º dia com colite		
Água	Fibra	FOS	Água	Fibra	FOS*
170	213,8	357,8	208,2	144,8	190
648,2	237,1	330,4	143,6	401,7	514,8
398	295,8	309	162,5	206,8	236,3
298,7	327,2	169	246,4	316,8	245,8
341,2	612,5	334	155,5	211,5	261
337,3	328,5	506	208	228	282,2
265,3	316,4	365,2	222	229	283,3
342,2	162,3	395	234,4	182,7	242,8
Média	350	311,68	197,57	240,16	246,75
	±138,2	±135,6	±38,7	±81,6	±31,9

Análise de variância _ **Kruskal_Wallis**

$H(7)=2,79$

Água = Fibra = FOS
para ($p > 0,05$)

$H(14)=6,26$

Por Wilcoxon

a) Água = Fibra ($p > 0,05$)

b)Fibra = FOS ($p > 0,05$)

c)FOS > Água ($p < 0,05$)*

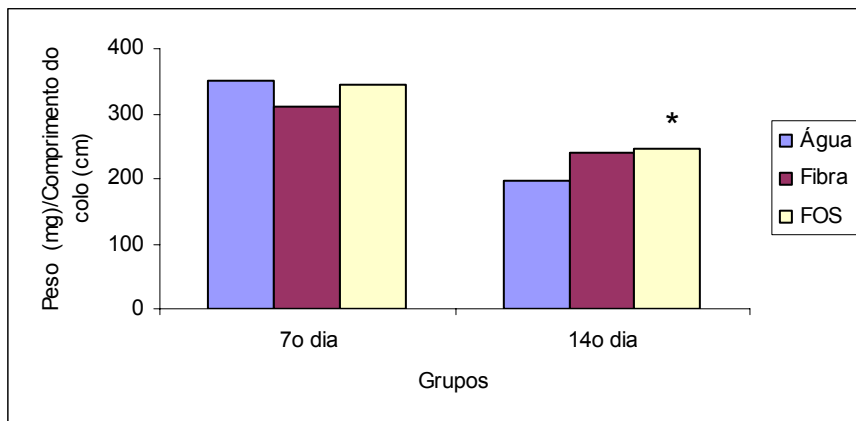


Figura 8: Média da relação peso do colo (mg) / tamanho do colo (cm) em ratos que receberam água, fibra solúvel ou FOS, submetidos à indução da colite por TNBS, avaliados no 7º e 14º dias após indução ($p < 0,05$)*

Avaliação macroscópica

Não houve alterações significantes nos escores macroscópicos nos três subgrupos do GEC, no 7º e 14 dias após indução da colite (Apêndice B-Tabela 6, Apêndice C-Figura 2 e Figuras 9, 10, 11 e 12).



Figura 9 – Segmento colorretal aberto no sentido longitudinal
Lesão principal se estendendo por 3 cm ao longo do comprimento do colo. Rato do subgrupo EC2 no 7º dia de avaliação



Figura 10 – Segmento colorretal aberto no sentido longitudinal. Lesão principal se estendendo por mais de 4 cm ao longo do colo. Rato do subgrupo EC3 no 7º dia de avaliação



Figura 11 – Segmento colorretal aberto no sentido longitudinal. Inflamação e ulceração em dois sítios (setas). Rato do subgrupo EC1 no 14º dia de avaliação



Figura 12 – Segmento colorretal aberto no sentido longitudinal. Espessamento da parede. Rato do subgrupo EC3 no 14º dia de avaliação

Avaliação microscópica

Não houve alterações significantes nos escores microscópicos, quando comparados os 3 subgrupos no 7º e 14 dias, após indução da colite (Apêndice B-Tabela 7, Apêndice C-Figura3 e Figuras 13a e b, 14a e b).

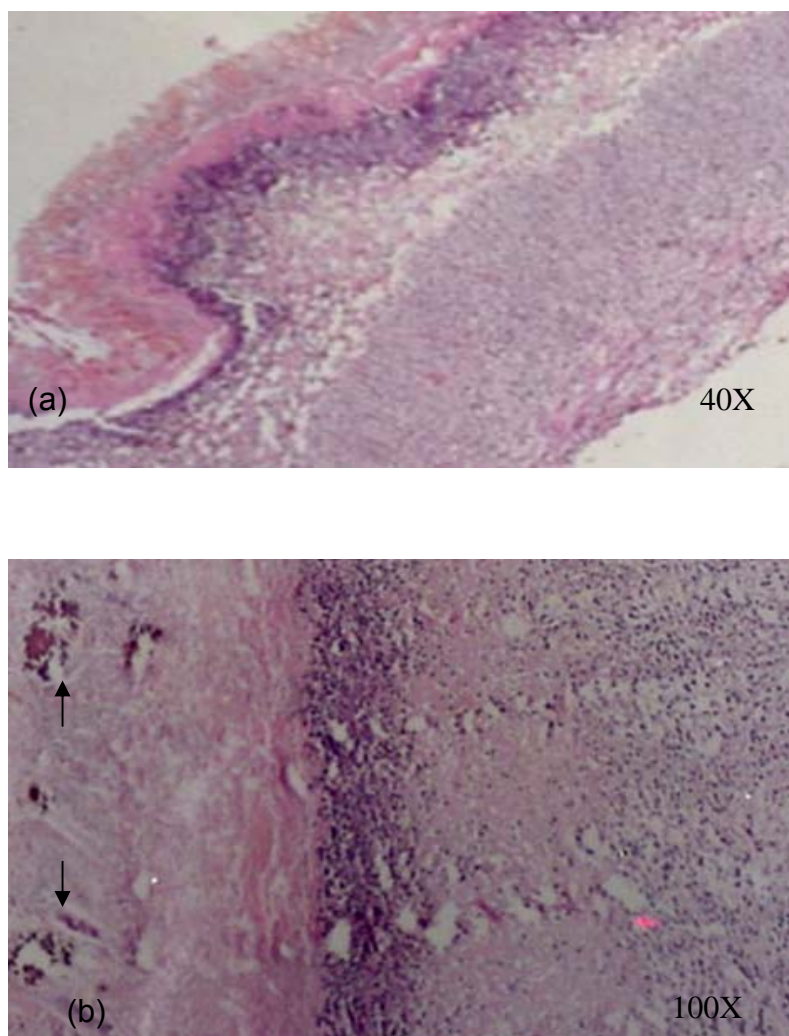


Figura 13 a,b – Fotomicrografia de corte longitudinal do segmento colorretal. Observa-se perda total da arquitetura de mucosa com ausência de células caliciforme, com áreas de necrose (setas) e infiltrado celular inflamatório acentuado ao longo de toda parede. HE 40X (a), 100X (b). Rato subgrupo EC1 no 7º dia de avaliação

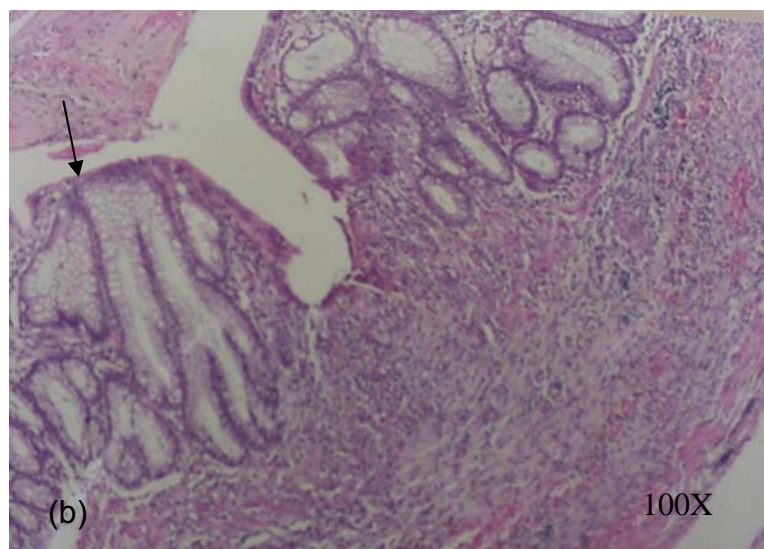
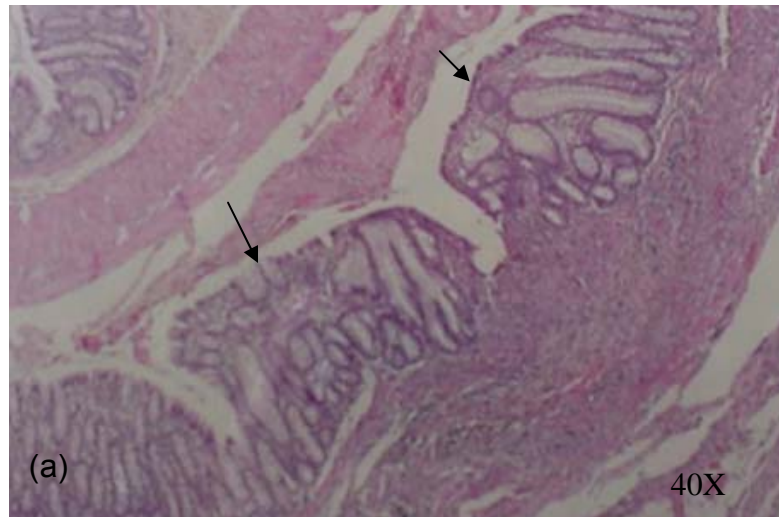


Figura 14 a, b – Fotomicrografia de corte longitudinal do segmento colorretal. Observa-se recuperação da arquitetura de mucosa (setas). Porém, ainda, está presente áreas de lesão e espessamento da parede com infiltrado celular. HE 40X (a) e 100X (b). Rato subgrupo EC2 no 14º dia de avaliação

- SUBGRUPO ÁGUA DO GRUPO SEM COLITE (ESC1) E SUBGRUPO ÁGUA DO GRUPO COLITE (EC1) avaliados no 7º e 14º dias, após aplicação transanal de água e indução da colite por TNBS.

Peso dos animais

Houve redução significativa no peso dos animais do EC1, quando comparados com o ESC1 no 7º dia após indução da colite e aplicação transanal de água. No entanto, essa diferença não ocorreu no 14º dia de avaliação (Tabela 2 e Figura 15).

Tabela 2: Evolução do peso (g) dos animais entre o início e término do experimento em ratos que utilizaram água, submetidos à aplicação transanal de água ou indução da colite por TNBS avaliados no 7º e 14º dias

7º dia		14º dia	
Água Sem colite	Água * Com colite	Água Sem colite	Água Com colite
35	-10	47	17
29	-22	17	73
23	-45	20	0
38	-80	32	22
32	-99	30	-19
15	-19	-68	46
5	-69	41	0
28	-25	22	16
Média	25,62	-46,12	17,62
			19,37

Por **Wilcoxon** com 5% de probabilidade

Substância	7º dia	14º dia
Água	com colite < sem colite (p < 0,05)*	Com colite = sem colite (p > 0,05)

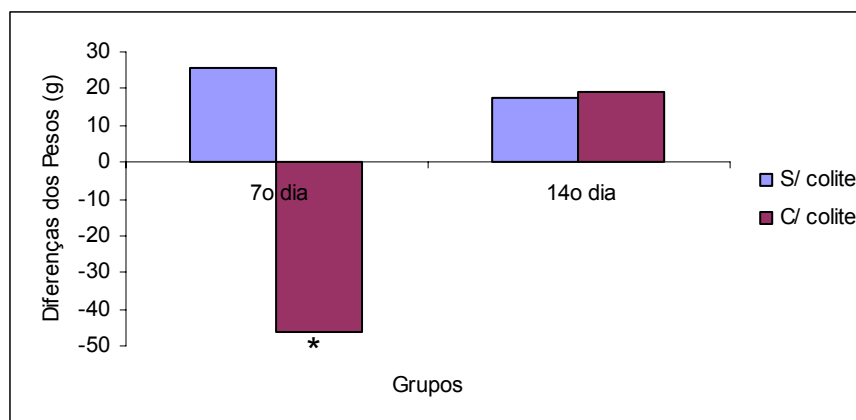


Figura 15: Média da evolução do peso (g) dos animais entre o início e término do experimento em ratos que utilizaram água, submetidos à aplicação transanal de água ou indução da colite por TNBS avaliados no 7º e 14º dias ($p < 0,05$)*

Relação peso do colo (mg) / comprimento do colo (g)

Observou-se elevação significativa na relação peso do colo / comprimento do colo no subgrupo água do GEC quando comparado com sub-grupo água do GESG no 7º e 14º dias, após indução da colite e aplicação transanal de água (Tabela 3 e Figura 16).

Tabela 3: Relação peso do colo (mg) / tamanho do colo (cm) em ratos que utilizaram água, submetidos à aplicação transanal de água ou indução da colite por TNBS avaliados no 7º e 14º dias

7º dia		14º dia	
Água Sem colite	Água* Com colite	Água Sem colite	Água* Com colite
74,6	149,5	121,2	208,2
72,8	123,5	116,8	143,6
73,3	110,4	133,8	162,5
80,7	97,3	145,1	246,4
82,7	131,8	150,2	155,5
78,2	60,3	135,6	208
140,8	130	106,7	222
89,7	76,1	151,4	234,4
Média	86,6	132,6	197,57

Por **Wilcoxon** com 5% de probabilidade

Substância	7º dia	14º dia
Água	com colite > sem colite	com colite > sem colite
	($p < 0,05$)*	($p < 0,05$)*

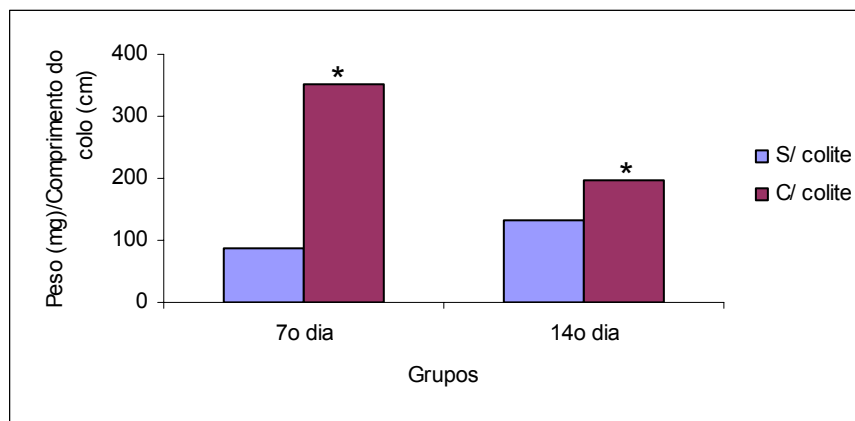


Figura 16: Média da relação peso do colo (mg) / tamanho do colo (cm) em ratos que utilizaram água, submetidos à aplicação transanal de água ou indução da colite por TNBS avaliados no 7º e 14º dias ($p < 0,05$)*

Avaliação macroscópica

Observou-se elevação significativa nos escores macroscópicos do subgrupo EC1 quando comparado com ESC1 (Tabela 4 e Figura 17).

Tabela 4: Escores macroscópicos dos achados inflamatórios em fragmentos colorretais de ratos que utilizaram água, submetidos à aplicação transanal de água ou indução da colite por TNBS avaliados no 7º e 14º dias após indução

7º dia		14º dia	
Água Sem colite	Água* Com colite	Água Sem colite	Água* Com colite
0	2	0	0
0	7	0	0
0	10	0	0
0	7	0	4
0	8	0	0
0	6	0	7
0	10	0	3
0	8	0	2
Média	07.25	0	2

Por **Wilcoxon** com 5% de probabilidade

Substância	7º dia	14º dia
Água	com colite > sem colite ($p < 0,05$)*	Com colite > sem colite ($p < 0,05$)*

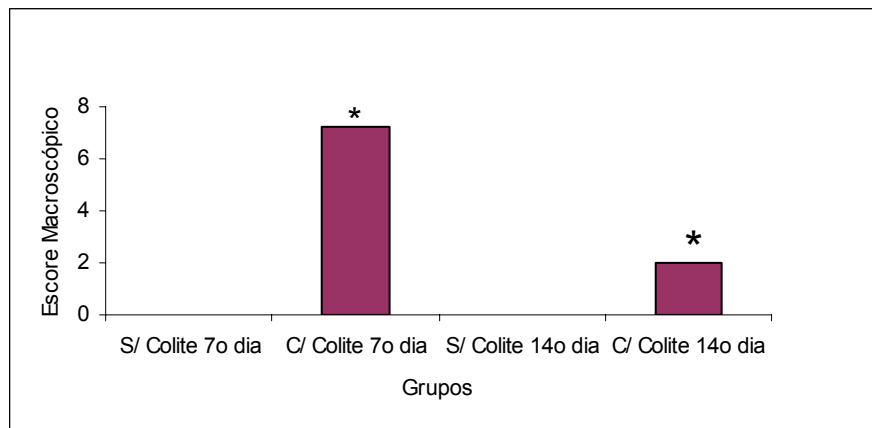


Figura 17: Média dos escores macroscópicos dos achados inflamatórios em fragmentos colorretais de ratos que utilizaram água, submetidos à aplicação transanal de água ou indução da colite por TNBS avaliados no 7º e 14º dias após indução ($p < 0,05$)*

Avaliação Microscópica

Observou-se aumento com significância estatística no escore microscópico do EC1 quando comparado ESC1 no 7º e 14º dia de avaliação (Tabela 5 e Figura 18).

Tabela 5: Escores microscópico dos achados inflamatórios em cortes histológicos corados por HE de fragmento provenientes de ratos que utilizaram água, submetidos à aplicação transanal de água ou indução da colite por TNBS avaliados no 7º e 14º dias após indução

	7º dia		14º dia	
	Água Sem colite	Água* Com colite	Água Sem colite	Água* Com colite
	0	2	0	3
	0	11	0	2
	0	11	0	9
	0	11	0	3
	0	11	0	3
	1	11	0	11
	1	11	0	11
	1	11	0	3
Média	0,37	9,87	0	5,62

Por **Wilcoxon** com 5% de probabilidade

Substância	7º dia	14º dia
Água	com colite > sem colite ($p < 0,05$)*	Com colite > sem colite ($p < 0,05$)*

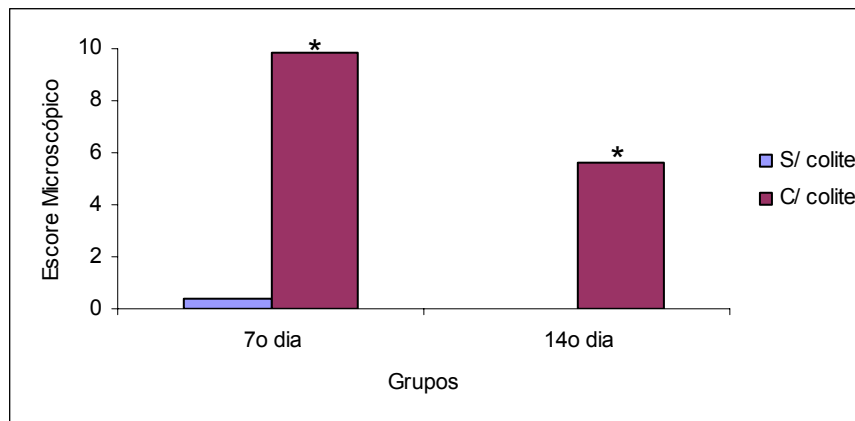


Figura 18: Média dos escores microscópico dos achados inflamatórios em cortes histológicos corados por HE de fragmento provenientes de ratos que utilizaram água, submetidos à aplicação transanal de água ou indução da colite por TNBS avaliados no 7º e 14º dias após indução ($p < 0,05$)*

AVALIAÇÃO METABÓLICA

Foram aferidas no tecido cólico *in vivo* as concentrações dos corpos cetônicos (3-hidroxibutirato, acetoacetato), piruvato, lactato, e ATP. Também foi avaliado o estado redox indireto no tecido cólico, na mitocôndria e no citoplasma pelas concentrações das relações [acetoacetato]/[3-hidroxibutirato] e [piruvato]/[lactato] respectivamente .

- GRUPO SEM COLITE: subgrupos (água, fibra solúvel e FOS) avaliados no 7º e 14º dias após aplicação de água transanal (corresponde ao 21º e 28º dias após início da suplementação com fibra solúvel e FOS)

Corpos cetônicos

Sem diferenças significante nas concentrações dos corpos cetônicos comparados os 3 subgrupos do grupo sem colite no 7º e 14º dias após aplicação transanal de água (Apêndice B-Tabela 8, Apêndice C-Figura 4).

3-Hidroxibutirato

Sem diferenças significante nas concentrações de 3-hidroxibutirato nos 3 subgrupos do grupo sem colite avaliados no 7º e 14º dias após aplicação transanal de água (Apêndice B-Tabela 9 e Apêndice C-Figura 5).

Acetoacetato

Não houve alterações significante nas concentrações do acetoacetato entre os subgrupo do grupo sem colite, avaliado no 7º dia após aplicação transanal de água. No entanto, observou-se aumento do acetoacetato no subgrupo com suplementação com fibra solúvel ao comparar com subgrupo água e FOS avaliados no 14º dia após aplicação transanal de água (Tabela 6 e Figura 19).

Tabela 6: Concentrações do acetoacetato ($\mu\text{mol/g}$ tecido) no tecido cólico *in vivo* de ratos que receberam água, fibra solúvel ou FOS, submetidos à aplicação transanal de água e avaliados no 7º e 14º dias após aplicação

7º dia sem colite				14º dia sem colite		
	Água	Fibra	FOS	Água	Fibra*	FOS
	0,054	0,007	0,064	0,028	0,065	0,023
	0,057	0,06	0,059	0,023	0,055	0,023
	0,049	0,042	0,064	0,001	0,072	0,05
	0,052	0,056	0,051	0,023	0,044	0,046
	0,057	0,051	0,055	0,02	0,066	0,028
	0,052	0,056	0,053	0,023	0,059	0,032
	0,036	0,066	0,057	0,066	0,063	0,013
	0,053	0,061	0,029	0,053	0,013	0,025
Média	0,05	0,05	0,05	0,03	0,05	0,03
	$\pm 0,001$	$\pm 0,02$	$\pm 0,01$	$\pm 0,02$	$\pm 0,05$	$\pm 0,03$

Análise de variância _ **Kruskal_Wallis**

$H(7) = 1,35$

$H(14) = 6,33$

Água = Fibra = FOS
para ($p > 0,05$)

Por Wilcoxon

a) Água = FOS ($p > 0,05$)

b) Fibra > FOS ($p < 0,05$)*

c) Fibra > Água ($p < 0,05$)*

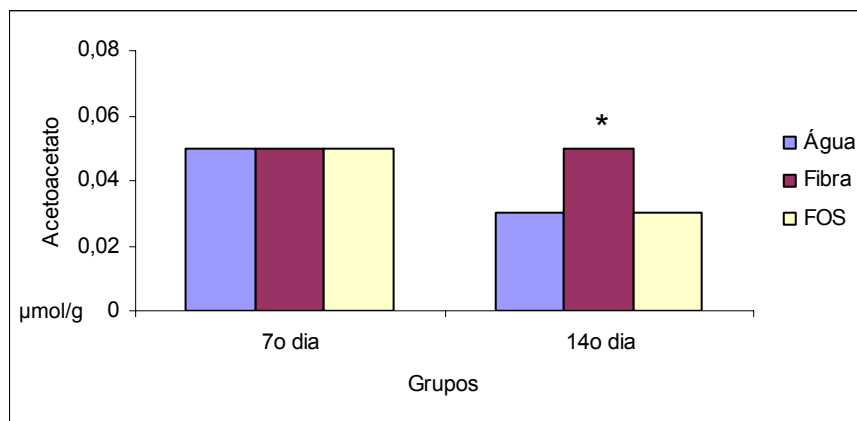


Figura 19: Média das concentrações do acetoacetato ($\mu\text{mol/g}$ tecido) no tecido cólico *in vivo* de ratos que receberam água, fibra solúvel ou FOS, submetidos à aplicação transanal de água e avaliados no 7º e 14º dias após aplicação ($p < 0,05$)*

Piruvato

Não foi observada alteração significativa nas concentrações do piruvato entre os subgrupo no 7º dia após aplicação transanal de água. Mas constatou-se redução nas concentrações desse metabólito nos subgrupos que utilizaram suplementação com fibra solúvel e FOS, no 14º dia após aplicação transanal de água, quando comparados com a água (Tabela 7 e Figura 20).

Tabela 7: Concentrações do piruvato ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico *in vivo* de ratos que receberam água, fibra solúvel ou FOS, submetidos à aplicação transanal de água e avaliados no 7º e 14º dias após aplicação

	7º dia sem colite			14º dia sem colite		
	Água	Fibra	FOS	Água	Fibra*	FOS*
	0,139	0,305	0,117	0,163	0,124	0,138
	0,127	0,148	0,153	0,132	0,143	0,11
	0,139	0,156	0,112	0,153	0,138	0,15
	0,135	0,134	0,138	0,168	0,132	0,135
	0,135	0,147	0,143	0,165	0,131	0,143
	0,135	0,144	0,141	0,15	0,054	0,137
	0,156	0,14	0,142	0,148	0,155	0,038
	0,16	0,141	0,143	0,149	0,01	0,025
Média	0,14	0,16	0,14	0,15	0,11	0,11
	$\pm 0,01$	$\pm 0,06$	$\pm 0,01$	$\pm 0,01$	$\pm 0,05$	$\pm 0,05$

Análise de variância _ **Kruskal_Wallis**

$$H(7) = 2,75$$

$$H(14) = 9,01$$

Água = Fibra = FOS
para ($p > 0,05$)

Por Wilcoxon

a) Água > Fibra ($p < 0,05$)*

b) Água > FOS ($p < 0,05$)*

c) Fibra = FOS ($p > 0,05$)

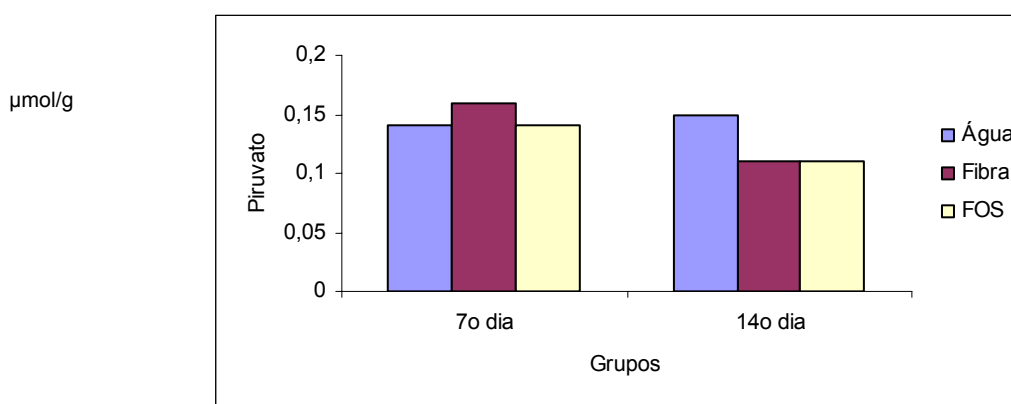


Figura 20: Média das concentrações do piruvato ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico *in vivo* de ratos que receberam água, fibra solúvel ou FOS, submetidos à aplicação transanal de água e avaliados no 7º e 14º dias após aplicação ($p < 0,05$)*

Lactato

As concentrações de lactato aferidas nos 3 subgrupos no 7º e 14º dias após aplicação transanal de água não apresentaram diferenças significantes (Apêndice B-Tabela 10 e Apêndice C-Figura 7).

ATP

Houve redução significativa nas concentrações de ATP nos subgrupos que utilizaram suplementação com fibra solúvel e FOS no 7º e 14º dias após aplicação transanal de água quando comparados com a água (Tabela 8 e Figura 21).

Tabela 8: Concentrações de ATP ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico *in vivo* de ratos submetidos à aplicação transanal de água que receberam água, fibra solúvel ou FOS avaliados no 7º e 14º dias após aplicação.

	7º dia sem colite			14º dia sem colite		
	Água	Fibra	FOS	Água	Fibra	FOS
	0,577	0,557	0,439	0,667	0,362	0,368
	0,534	0,398	0,446	0,623	0,37	0,427
	0,539	0,401	0,532	0,505	0,348	0,42
	0,529	0,379	0,42	0,549	0,388	0,422
	0,498	0,36	0,349	0,513	0,5	0,471
	0,982	0,419	0,383	0,505	0,411	0,459
	0,474	0,448	0,455	0,569	0,413	0,561
	0,317	0,447	0,371	0,5	0,394	0,362
Média	0,56	0,43	0,43	0,55	0,4	0,44
	$\pm 0,19$	$\pm 0,06$	$\pm 0,06$	$\pm 0,06$	$\pm 0,05$	$\pm 0,06$

Análise de variância _ **Kruskal_Wallis**

$H(7)=6,01$

$H(14)=14,26$

Por **Wilcoxon**

a) Água > Fibra ($p < 0,05$)*

b) Água > FOS ($p < 0,05$)

c) Fibra = Fos ($p > 0,05$)

Por **Wilcoxon**

a) Água > Fibra ($p < 0,05$)*

b) Água > FOS ($p < 0,05$)*

c) Fibra = FOS ($p > 0,05$)

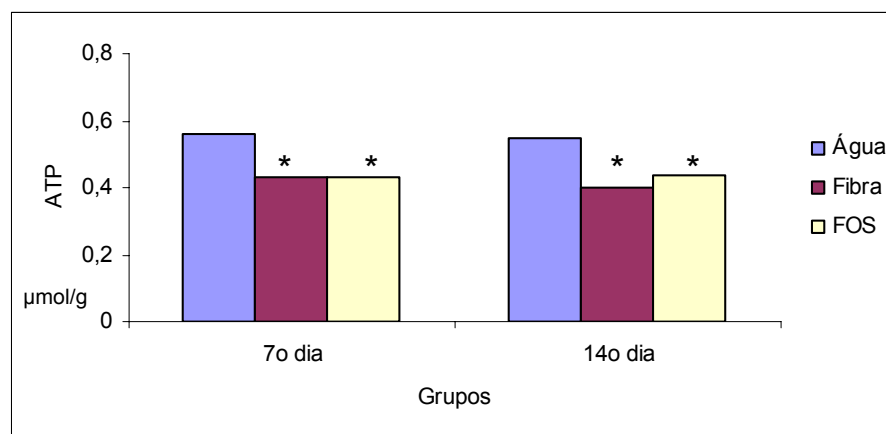


Figura 21: Média das concentrações de ATP ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico *in vivo* de ratos submetidos à aplicação transanal de água que receberam água, fibra solúvel ou FOS avaliados no 7º e 14º dias após aplicação ($p < 0,05$)*

Estado redox da célula

Mitocôndria- [Acetoacetato] [3-Hidroxibutirato]

A relação das concentrações aferidas nos 3 subgrupos no 7º e 14º dias após aplicação transanal de água não apresentaram diferenças significantes (Apêndice B-Tabela 11 e Apêndice C-Figura 9).

Citoplasma- [Piruvato] [Lactato]

A relação das concentrações aferidas nos 3 subgrupos no 7º e 14º dias após aplicação transanal de água não apresentaram diferenças significantes (Apêndice B-Tabela 12 e Apêndice C-Figura 10).

- GRUPO COM COLITE: subgrupos (água, fibra solúvel e FOS) avaliados no 7º e 14º dias após indução da colite por TNBS.

Corpos cetônicos

Sem diferenças significantes nas concentrações dos corpos cetônicos entre os subgrupos no 7º e 14º dias após indução da colite (Apêndice B-Tabela 13 e Apêndice C-Figura 4).

3-Hidroxibutirato

Sem significância estatística nas concentrações de 3-hidroxibutirato e acetoacetato comparadas entre os subgrupos no 7º e 14º dias após indução da colite (Apêndice B-Tabela 14 e Apêndice C-Figura 5).

Acetoacetato

Sem significância estatística nas concentrações de 3-hidroxibutirato e acetoacetato comparadas entre os subgrupos no 7º e 14º dias após indução da colite (Apêndice B-Tabela 15).

Piruvato

As concentrações de piruvato não apresentaram significância estatística nos 3 subgrupos no 7º dia após indução da colite. No entanto, foi observada aumento significativo dessas concentrações no subgrupo com suplementação com fibra solúvel no 14º dia após indução da colite quando comparado com água (Tabela 9 e Figura 22).

Tabela 9: Concentrações do piruvato ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico *in vivo* de ratos submetidos à indução da colite por TNBS que receberam água, fibra e FOS, avaliados no 7º e 14º dias após indução

	7º dia com colite			14º dia com colite		
	Água	Fibra	FOS	Água	Fibra*	FOS
	0,001	0,024	0,035	0,014	0,161	0,132
	0,021	0,001	0,029	0,138	0,163	0,202
	0,065	0,108	0,009	0,138	0,144	0,153
	0,056	0,11	0,047	0,137	0,187	0,16
	0,038	0,015	0,02	0,116	0,161	0,117
	0,014	0,066	0,052	0,12	0,164	0,177
	0,024	0,088	0,094	0,164	0,158	0,117
	0,119	0,117	0,028	0,146	0,184	0,194
Média	0,04	0,07	0,04	0,12	0,17	0,16
	$\pm 0,04$	$\pm 0,05$	$\pm 0,03$	$\pm 0,04$	$\pm 0,01$	$\pm 0,03$

Análise de variância _ **Kruskal_Wallis**

$H(7)=1,21$

$H(14)=6,44$

Água = Fibra = FOS
para ($p > 0,05$)

Por Wilcoxon

a) Fibra > Água ($p < 0,05$)*

b) Água = FOS ($p > 0,05$)

c) Fibra = FOS ($p > 0,05$)

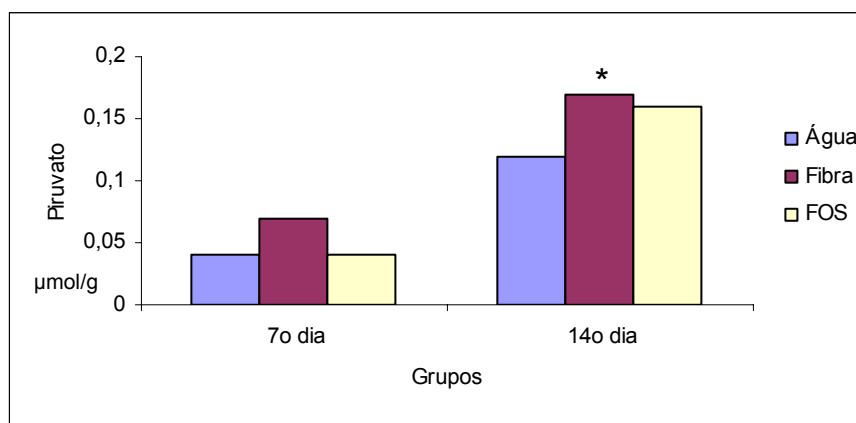


Figura 22: Média das concentrações do piruvato ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico *in vivo* de ratos submetidos à indução da colite por TNBS que receberam água, fibra ou FOS, avaliados no 7º e 14º dias após indução ($p < 0,05$)*

Lactato

Não houve alterações significantes nas concentrações do lactato aferidas nos 3 subgrupos no 7º e 14º dias após indução da colite (Apêndice B-Tabela 16 e Apêndice C-Figura 7).

ATP

Houve redução significativa nas concentrações de ATP nos subgrupos que utilizaram suplementação com fibra solúvel e FOS no 7º e 14º dias após indução da colite quando comparados com a água (Tabela 10 e Figura 23).

Tabela 10: Concentrações de ATP ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico *in vivo* de ratos submetidos à indução da colite por TNBS que receberam água, fibra ou FOS avaliados no 7º e 14º dias após indução

	7º dia com colite			14º dia com colite		
	Água	Fibra*	FOS*	Água	Fibra*	FOS*
	0,645	0,4	0,425	0,585	0,467	0,412
	0,517	0,402	0,477	0,578	0,438	0,409
	0,513	0,542	0,41	0,562	0,454	0,437
	0,593	0,394	0,427	0,461	0,397	0,482
	0,587	0,408	0,406	0,457	0,405	0,382
	0,537	0,472	0,405	0,461	0,445	0,333
	0,51	0,473	0,409	0,554	0,399	0,428
	0,541	0,388	0,486	0,517	0,412	0,485
Média	0,56	0,43	0,43	0,52	0,43	0,42
	$\pm 0,05$	$\pm 0,05$	$\pm 0,03$	$\pm 0,06$	$\pm 0,03$	$\pm 0,05$

Análise de variância _ **Kruskal_Wallis**

$H(7)=13,33$

$H(14)=11,53$

Por **Wilcoxon**

a) Água > Fibras ($p < 0,05$)*

b) Água > FOS ($p < 0,05$)*

c) Fibras = FOS ($p > 0,05$)

Por **Wilcoxon**

a) Água > Fibras ($p < 0,05$)*

b) Água > Fibras ($p < 0,05$)*

c) Fibras = FOS ($p > 0,05$)

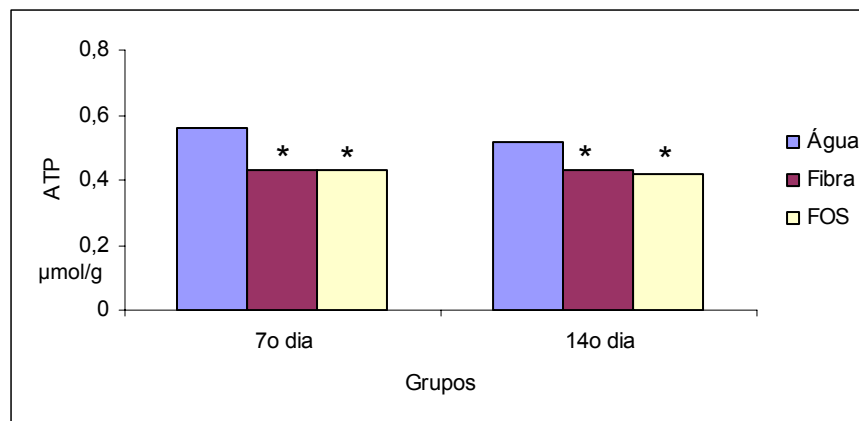


Figura 23: Média das concentrações de ATP ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico *in vivo* de ratos submetidos à indução da colite por TNBS que receberam água, fibras ou FOS avaliados no 7º e 14º dias após indução ($P < 0,05$)*

Estado redox da célula

Mitocôndria- [Acetoacetato] [3-Hidroxibutirato]

A relação das concentrações aferidas nos 3 subgrupos no 7º e 14º dias após aplicação transanal de água não apresentaram diferenças significantes (Apêndice B-Tabela 17 e Apêndice C-Figura 9).

Citoplasma- [Piruvato] [Lactato]

A relação das concentrações aferidas nos 3 subgrupos no 7º e 14º dias após aplicação transanal de água não apresentaram diferenças significantes (Apêndice B-Tabela 18 e Apêndice C-Figura 10).

- SUBGRUPO ÁGUA DO GRUPO SEM COLITE (ESC1) e SUBGRUPO ÁGUA DO GRUPO COLITE (EC1) avaliados no 7º e 14º dia após injeção transanal de água e indução da colite por TNBS.

Corpos cetônicos

Observou-se elevação significativa nas concentrações dos corpos cetônicos no subgrupo EC1 quando comparado com subgrupo ESC1 no 7º dia após indução da colite e aplicação transanal de água. No entanto, não houve diferenças significantes quando comparados os dois subgrupos no 14º dia (Tabela 11e Figura 24).

Tabela 11: Concentrações do corpos cetônicos ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico *in vivo* de ratos que receberam água e submetidos à aplicação transanal de água ou indução da colite por TNBS avaliados no 7º dia após indução.

7º dia		14º dia	
Água Sem colite	Água* Com colite	Água Sem colite	Água Com colite
0,135	0,144	0,174	0,354
0,092	0,277	0,095	0,15
0,141	0,174	0,086	0,098
0,066	0,101	0,18	0,076
0,131	0,259	0,046	0,201
0,102	0,25	0,079	0,226
0,184	0,126	0,253	0,075
0,161	0,175	0,151	0,235
Média	0,13	0,13	0,18

Por **Wilcoxon** com 5% de probabilidade

Substância	7º dia	14º dia
Água	com colite > sem colite ($p < 0,05$)*	Com colite = sem colite ($p > 0,05$)

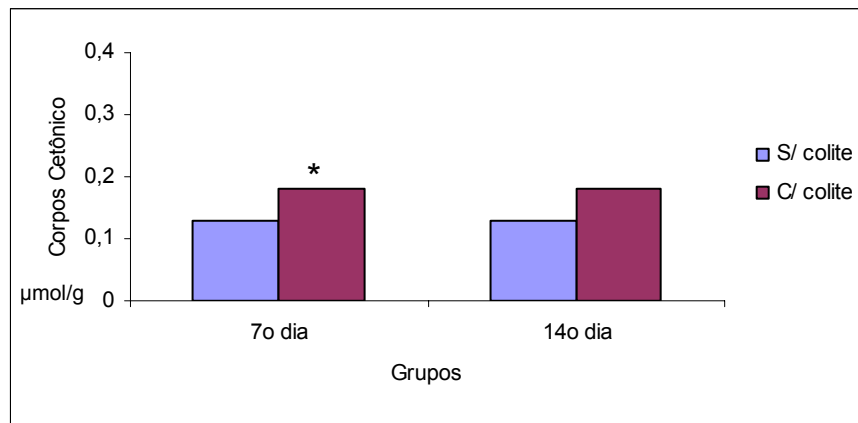


Figura 24: Média das concentrações dos corpos cetônicos ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico *in vivo* de ratos que receberam água e submetidos à aplicação transanal de água ou indução da colite por TNBS avaliados no 7º dia após indução ($P < 0,05$)*

3-Hidroxibutirato

Não foram observadas diferenças significantes nas concentrações do 3-hidroxibutirato aferidas entre os subgrupos que utilizaram água, no 7º e 14º dias após aplicação transanal de água e indução da colite (Apêndice B-Tabela 19 e Apêndice C-Figura 5).

Acetoacetato

Não foram observadas diferenças significantes nas concentrações do acetoacetato aferidas entre os subgrupos ESC1 e EC1 no 7º e 14º dias após aplicação transanal de água e indução da colite (Apêndice B-Tabela 20).

Piruvato

Houve redução com significância estatística nas concentrações de piruvato no subgrupo EC1 se comparado com subgrupo ESC2 no 7º e 14º dias após aplicação transanal de água e indução da colite (Tabela 12 e Figura 25).

Tabela 12: Concentrações do piruvato ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico *in vivo* de ratos que receberam água e submetidos à aplicação transanal de água ou indução da colite por TNBS avaliados no 7º dia após indução.

7º dia		14º dia	
Água Sem colite	Água* Com colite	Água Sem colite	Água* Com colite
0,139	0,001	0,163	0,014
0,127	0,021	0,132	0,138
0,139	0,065	0,153	0,138
0,135	0,056	0,168	0,137
0,135	0,038	0,165	0,116
0,135	0,014	0,15	0,12
0,156	0,024	0,148	0,164
0,16	0,119	0,149	0,146
Média	0,14	0,15	0,12

Por **Wilcoxon** com 5% de probabilidade

Substância	7º dia	14º dia
Água	com colite < sem colite ($p < 0,05$)*	Com colite < sem colite ($p > 0,05$)*

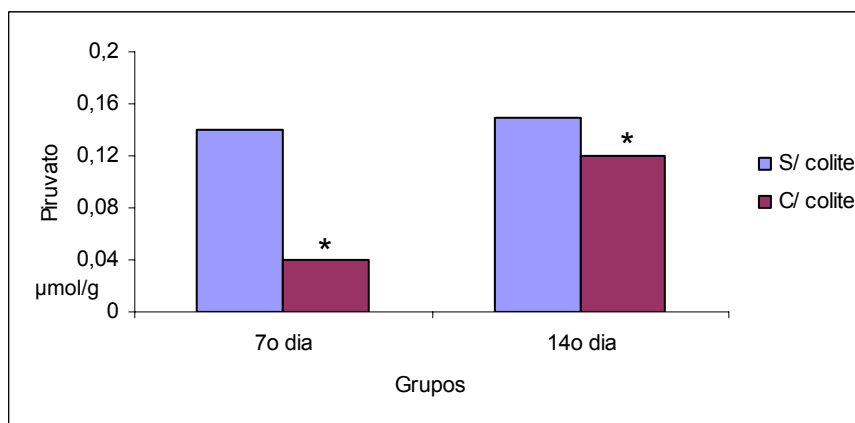


Figura 25: Média das concentrações do piruvato ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico *in vivo* de ratos que receberam água e submetidos à aplicação transanal de água ou indução da colite por TNBS avaliados no 7º dia após indução ($P < 0,05$)*

Lactato

Não houve alterações significantes nas concentrações de lactato no subgrupo ESC1 quando comparado com subgrupo EC1 no 7º e 14º dias após aplicação transanal de água e indução da colite (Apêndice B-Tabela 21e Apêndice C-Figura 7).

ATP

Não houve alterações com significância estatística nas concentrações de ATP quando comparados os dois subgrupos água no 7º e 14º dias após aplicação transanal de água e indução da colite (Apêndice B-Tabela 22 e Apêndice C-Figura 8).

Estado redox da célula

**Mitocôndria- [Acetoacetato]
[3-Hidroxibutirato]**

Observou-se redução significativa nas concentrações da relação no subgrupo EC1 quando comparado com subgrupo água do ESC1 no 7º dia após aplicação transanal de água e indução da colite. No entanto, não houve alterações com significância estatística nas concentrações da relação entre os subgrupos água avaliados no 14º dia após aplicação transanal de água e indução da colite (Tabela 13 e Figura 26).

Tabela 13: Relação das concentrações [acetoacetato]/[3-hidroxiacetato] ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico *in vivo* de ratos que receberam água e submetidos à aplicação transanal de água ou indução da colite por TNBS avaliados no 7º e 14º dias após indução

	Água Sem colite	Água* Com colite	Água Sem colite	Água Com colite
	0,675	0,191	0,191	0,573
	1,628	0,746	0,393	0,33
	0,538	0,071	0,011	1,13
	4	1,02	0,149	1,027
	0,77	0,35	0,769	0,117
	1,04	0,791	0,418	0,141
	0,243	0,288	0,354	9,415
	0,495	0,198	0,54	0,14
Média	1,17	0,46	0,35	1,61

Por **Wilcoxon** com 5% de probabilidade

Substância	7º dia	14º dia
Água	com colite < sem colite ($p < 0,05$)*	Com colite = sem colite ($p > 0,05$)

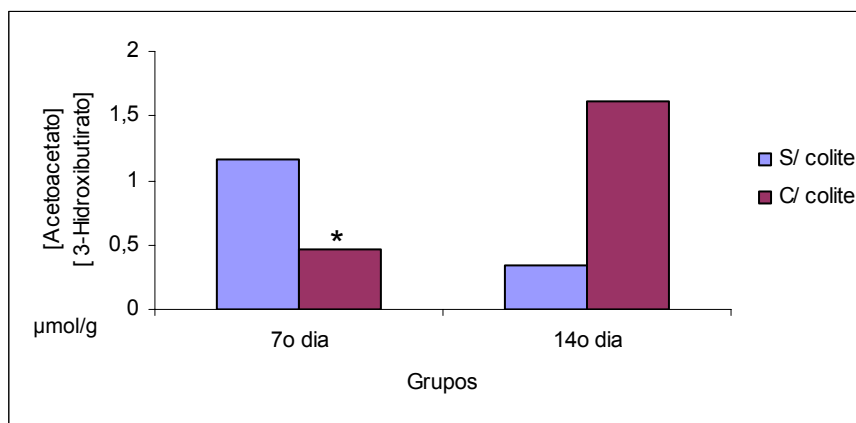


Figura 26: Média da relação das concentrações [acetoacetato]/[3-hidroxiacetato] ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico *in vivo* de ratos que receberam água e submetidos à aplicação transanal de água ou indução da colite por TNBS avaliados no 7º e 14º dias após indução ($P < 0,05$)*

Citoplasma- [Piruvato]
[Lactato]

Foi evidenciada redução significativa nas concentrações da relação aferidas no subgrupo EC1 quando comparado com subgrupo ESC1 no 7º dia após aplicação transanal de água e indução da colite. No entanto, não houve alterações com significância estatística nas concentrações da relação entre os subgrupos avaliados no 14º dia após aplicação transanal de água e indução da colite (Tabela 14 e Figura 27).

Tabela 14: Relação das concentrações [piruvato]/[lactato] ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico *in vivo* de ratos que receberam água e submetidos à aplicação transanal de água ou indução da colite por TNBS avaliados no 7º e 14º dias após indução

7º dia		14º dia	
Água Sem colite	Água* Com colite	Água Sem colite	Água Com colite
0,064	0	0,204	0,013
0,086	0,007	0,203	0,164
0,131	0,084	0,098	0,128
0,069	0,523	0,157	0,11
0,192	0,015	0,186	0,154
0,066	0,077	0,156	0,039
0,073	0,027	0,129	0,211
0,116	0,03	0,201	0,224
Média	0,1	0,17	0,13

Por Wilcoxon com 5% de probabilidade

Substância	7º dia	14º dia
Água	Com colite < sem colite (p < 0,05)*	Com colite = sem colite (p > 0,05)

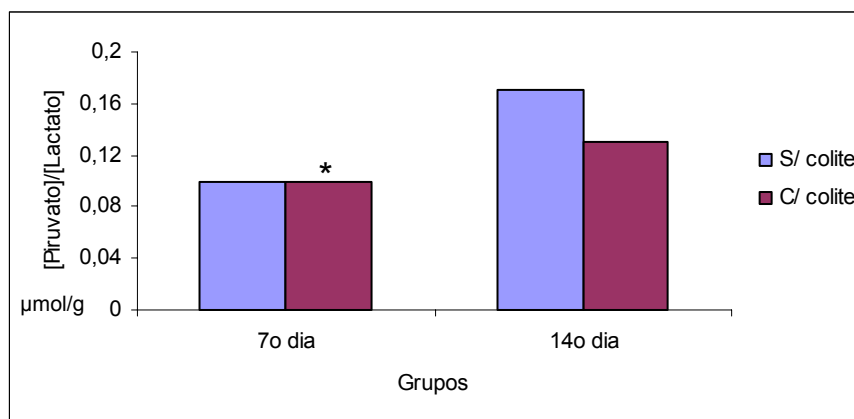


Figura 27: Média da relação das concentrações [piruvato]/[lactato] ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico *in vivo* de ratos que receberam água e submetidos à aplicação transanal de água ou indução da colite por TNBS avaliados no 7º e 14º dias após indução ($P < 0,05$)*

5 DISCUSSÃO

As fibras dietéticas apresentam múltiplas propriedades benéficas ao organismo e têm sido amplamente utilizadas não só como componentes da alimentação normal, mas como tratamento ou medida adjuvante em determinadas condições patológicas (ANDERSON, 1980; ARO; UUSITUPA; VOUTILAINEN., 1981; HAROLD et al., 1985; WHITEWAY; MORSON, 1985; ULLRICH, 1987; ABIA et al., 1989, WEINSTOCK ; LEVINE, 1997; JENSEN; HARKSELL; WHITTAM, 1997; BONADA SANJAUME; SOLÁ ALBERICH, 1998; MARQUEZ, 2001). No entanto, os resultados apresentados na literatura não são completamente esclarecedores quanto ao uso de fibras e FOS no tratamento e controle da doença inflamatória intestinal e nos modelos de colite (ANDOH; BAMBA; SASAKI, 1999; KANAUCHI et al., 1999; FERNÁNDEZ-BANARES et al., 1999; JACOBASCH et al., 1999; ARAKI et al., 2000; VIDELA et al., 2001; GALANDI; ALLGAIER, 2002; KANAUCHI et al., 2002; FUKUDA et al., 2002; RODRIGUEZ-CABEZAS et al, 2002; CHERBUT; MICHEL; LECANNU, 2003; HALLERT et al., 2003; RODRIGUEZ-CABEZAS et al, 2003; MOREAU et al., 2003). Alguns estudos têm também sugerido alterações no metabolismo dos ácidos graxos de cadeia curta, produtos da fermentação das fibras e FOS, podendo está relacionado com a fisiopatogenia das doenças inflamatórias intestinais inespecíficas (ROEDIGER, 1980; ROEDIGER; NANCE, 1986; ROEDIGER, 1990; AHMAD et al., 2000; RODRIGUEZ-CABEZAS et al., 2003). Portanto, há necessidade de novos estudos para melhor esclarecimento do papel dessas substâncias nas afecções inflamatórias.

O rato foi o animal escolhido para esse estudo, pois é de baixo custo e de fácil aquisição, manutenção e apresenta elevada resistência à infecção e ao trauma (FESTING, 1979). Várias pesquisas que envolveram colite e fibra também

utilizaram esse animal, que se mostrou adequado aos estudos (JACOBASCH et al., 1999; KANAUCHI et al., 1999; VIDELA et al., 2001; FUKUDA et al., 2002; RODRIGUEZ-CABEZAS et al., 2002 E 2003; CHERBUT; MICHEL; LECANNU, 2003; MOREAU et al., 2003).

Os animais foram distribuídos em dois grupos para avaliar o efeito da suplementação intragástrica com fibra e FOS em duas situações distintas: no tecido cólico normal e após indução da colite, na presença de inflamação. Foram avaliadas duas fases da evolução do processo inflamatório, aguda e crônica.

Os modelos de colite possibilitam estudar a evolução da inflamação aguda, crônica e a reparação, mimetizando o processo inflamatório (KIRSNER, 1961; WATT; MARCUS, 1973; MACPHERSON; PFEIFFER, 1976 e 1978; CEREDIG, HENDERSON; NAIRN, 1977; OKAYASU et al., 1990; HAMMER et al., 1990; YAMADA et al., 1992, 1993; TAUROG et al., 1993; DIELEMAN; PENA MEUWISSEN, 1997; ELSON et al., 1997; SATOH et al., 1997). No entanto, ainda apresentam limitações no completo entendimento dos aspectos fisiopatogênicos das doenças inflamatórias intestinais (YAMADA et al., 1992; BOBIN-DUBIGEON et al., 2001).

A escolha do modelo de colite por ácido trinitrobenzeno sulfônico (TNBS) foi devido à sua simplicidade, reprodutibilidade e fácil aplicação aos animais de pequeno porte, sendo amplamente utilizado para estudo em colite (YAMADA et al., 1992; JACOBASCH et al., 1999; BOBIN-DUBIGEON et al., 2001; RODRIGUEZ-CABEZAS et al., 2002; CHERBUT; MICHEL; LECANNU, 2003). Nesse modelo, a lesão é produzida pela ação inicial do álcool (solvente) que quebra a barreira mucosa, alterando a permeabilidade, seguida da lesão imunomodulada pelo TNBS (MORRIS et al., 1989). Wallace, Whittle e Boughton-Smith (1985) inicialmente descreveram a atividade pró-inflamatória do etanol que produz rápida e intensa lesão da mucosa do colo evoluindo para uma resposta inflamatória aguda que regride aproximadamente em duas semanas. O TNBS é um hapteno metabolizado por enzimas do colo que desenvolve resposta imunomediada após sensibilização do animal pelo etanol produzindo citocinas pró-inflamatórias e agentes oxidantes citotóxicos que perpetuam a inflamação. A intensidade da lesão do colo depende da concentração do TNBS instilado. Pode produzir lesões agudas ou crônicas com a dose utilizada de 10 e 30 mg,

respectivamente, semelhantes às encontradas principalmente na DC e RCUI (MORRIS et al., 1989). O processo inflamatório pode ser evidenciado a partir de 24 horas após a agressão, ocorrendo infiltração celular (atividade da MPO elevada), hiperemia, ulceração, aumento do peso do colo e até necrose transmural que pode perpetuar aproximadamente até o 7º dia. A partir do 8º dia, inicia-se a fase crônica da colite (ALLGAYER; DESCHRYVER; STENSON, 1989; RACHMILCWITZ, 1989; YAMADA et al., 1992).

Nesse estudo, foi utilizado o TNBS na dose de 20 mg para possibilitar avaliação dos resultados na fase aguda e crônica, no 7º e 14º dias após indução respectivamente (CHERBUT; MICHEL; LECANNU, 2003). A utilização de 10 mg possibilita avaliar melhor a fase aguda da colite, até aproximadamente 10 dias após a indução. Já 30 mg, produz colite crônica, estendendo os fenômenos da inflamação até aproximadamente 21 dias após a indução (YAMADA et al., 1992).

Para este estudo, foi escolhida a fibra solúvel, goma guar e um prebiótico, frutooligossacarídeos (FOS).

As fibras chegam ao intestino grosso inalteradas. São metabolizadas no ceco pelas enzimas originárias das bactérias intestinais. Estas reações são de elevada atividade metabólica, reduzem imediatamente o pH de 7 a 7,5 para 6,0 a 6,5 e aumentam a temperatura em até 0,7 °C. As moléculas são fragmentadas em hexoses, pentoses e álcoois. Outras colônias de bactérias degradam essas substâncias em ácidos graxos de cadeia curta (acetato, propionato e butirato), ácido láctico, H₂O, CO₂, H₂ e metano com produção de energia. Essa reação de decomposição das fibras pela flora bacteriana do colo é denominada de fermentação. Dos produtos resultantes da fermentação das fibras, os ácidos graxos de cadeia curta apresentam papel importante na homeostase do colo. A capacidade de fermentação é variável entre as fibras e se relaciona com a sua composição e propriedades físico-químicas (MÁRQUEZ, 2001).

A goma guar é um polissacarídeo hidrolisado de reserva nutricional das sementes de *Cyamopsis tetragonolobus*, uma planta da família das leguminosas. Apresenta elevada capacidade de fermentação (MÁRQUEZ, 2001).

O prebiótico, FOS é formado por 95% de cadeias de polissacarídeo composto por duas, três ou quatro cadeias curtas de frutose ligadas a uma de

glicose. É um produto natural encontrado nas frutas e vegetais. Essas moléculas são substratos para bifidobactérias e lactobacilos presentes no intestino grosso resultando em aumento na população dessas bactérias não patogênicas, assim como fermentação das fibras, redução no pH e inibição no crescimento de bactérias patogênicas e seus produtos tóxicos (GIBSON; ROBERFROID, 1995a, b; LE BLAY et al., 1999; MARX; WINKLER; HARTMEIER, 2000).

A suplementação com fibra e prebiótico pode ser realizada através da confecção de dietas especiais (JACOBASCH et al., 1999; FUDUKA et al., 2002; KANAUCHI et al., 1999, 2002; RODRIGUEZ-CABEZAS et al, 2002, 2003; MOREAU et al., 2003) ou pela administração intragástrica (VIDELA et al., 2001; CHERBUT; MICHEL; LECANNU, 2003). No presente estudo, optou-se pela administração intra-gástrica visando quantificar precisamente a solução infundida sem variações diárias entre os animais. No entanto, essa técnica corre riscos de trauma ou acidente, que podem ser fatais. Daí a necessidade de treinamento prévio da equipe responsável pelo procedimento.

Foram realizadas duas gavagens diárias, num intervalo de quatro horas entre uma e outra. Foi utilizada um cateter maleável de polietileno nº 6 Fr para reduzir o trauma. A solução injetada formada por fibra solúvel ou FOS diluída em água num total de 3 ml apresentou-se fluída e bem tolerada pelos animais. Para facilitar o procedimento, foi desenvolvido um dispositivo, tipo cânula, visando manter a boca do animal aberta, evitando que o mesmo pudesse morder e destruir a sonda.

Videla et al. (2001) estudaram o efeito da suplementação de um tipo de prebiótico (inulina) em modelos de colite por sulfato sódico de dextrano. Os autores, utilizaram gavagens orais de solução de 2 ml de inulina em uma tomada diária. Essa solução também foi bem tolerada pelos animais. Cherbut, Michel e Lecannu (2003) avaliaram o efeito da suplementação de um outro tipo de prebiótico (FOS) em modelo de colite por TNBS. Realizaram a suplementação por gavagens através de cateter intragástrico ou intra-cólico permanente fixado no dorso do animal. Utilizaram uma solução de 4 ml., duas vezes ao dia. Não referiram complicações com esse volume administrado. No entanto, outros autores preferiram a confecção de dietas enriquecidas em fibras ou carboidratos não-digeríveis e ingeridas livremente pelos animais (JACOBASCH et al., 1999;

FUDUKA et al., 2002; RODRIGUEZ-CABEZAS et al, 2002, 2003; MOREAU et al., 2003).

Além das gavagens, os animais continuaram recebendo ração e água *ad libitum* como nos estudos que utilizaram suplementação intragástrica com fibra (VIDELA et al., 2001; CHERBUT; MICHEL; LECANNU, 2003).

A quantidade diária de fibra ou carboidratos não-digeríveis estabelecida nesse estudo foi de 2 g em duas tomadas diárias de 1 g cada, num intervalo de 4 h, diluída em 3 ml de água potável semelhante ao estudo de Cherbut, Michel e Lecannu, (2003). Essa quantidade de fibra corresponde aproximadamente 5 % da ingesta diária do animal (FESTING, 1979). Já Rodrigues-Cabezas et al. (2002 e 2003) utilizaram uma dieta preparada com suplementação com fibra (5 g de semente de *Plantago ovata* adicionada a 95 g de dieta padrão). A suplementação com fibra foi iniciada 14 dias antes da indução da colite (GEC) ou aplicação transanal de água (GESC), permanecendo até o dia da eutanásia (RODRIGUES-CABEZAS et al., 2002). Já Cherbut, Michel e Lecannu, (2003) iniciaram 7 dias antes da indução da colite.

Os trabalhos que utilizaram a suplementação com fibras ou prebiótico sugeriram um período prévio de adaptação. Esse período é variável de acordo com cada método. Este fato se deve ao mecanismo de ação das fibras, carboidratos não-digeríveis e prebióticos. É necessário sua metabolização para produção dos ácidos graxos de cadeia curta que apresentam múltiplas funções no colo.

Nesse experimento, foram avaliados parâmetros inflamatórios em três situações distintas. No grupo sem colite (GESC) (tecido cólico normal) comparando os três subgrupos entre si (água, fibra solúvel e FOS). Da mesma forma, no grupo colite por TNBS (GEC), comparando os três subgrupos entre si (água, fibra solúvel e FOS). Também foram comparados os dois subgrupos que utilizaram água potável, sendo um do grupo sem colite (ESC1) e outro do grupo colite (GEC1). Na avaliação inflamatória, foram estudados a evolução do peso dos animais no início e término do experimento, relação peso do colo / tamanho do colo, os achados inflamatórios macroscópicos utilizando um escore macroscópico e os achados histológicos empregando um escore microscópico.

Quanto à avaliação inflamatória no grupo sem colite (GESC) estudados no 7º e 14º dias após aplicação transanal de água (correspondendo ao 21º e 28º dias de suplementação com fibra e FOS), não houve alterações significantes nos diversos parâmetros inflamatórios avaliados. Quanto à relação peso do colo/tamanho do colo que se manteve inalterada apresentando resultados comparáveis aos de Moreau et al. (2003). Esse autores realizaram estudo em ratos. Avaliaram a suplementação oral com amido resistente e FOS comparando com dieta basal no colo normal e na vigência da colite por sulfato sódico de dextrano (MOREAU et al., 2003). No presente estudo, a fibra solúvel e FOS não alteraram os parâmetros inflamatório avaliados no colo normal.

No grupo submetido à indução da colite (GEC) por TNBS, não foi evidenciada diferenças significantes nos pesos dos animais quando comparados o início e término do experimento nas datas estabelecidas. Já, na relação peso do colo / comprimento do colo foi observado aumento nessa relação no subgrupo FOS quando comparado com a água e fibra, no 14º dia após indução da colite. No 7º dia, essa relação não se alterou. Quanto aos escores macroscópicos não apresentaram diferenças estatisticamente significantes no 7º e 14º dias após indução da colite quando comparados os subgrupos entre si. Da mesma forma com os escore microscópico, sem diferenças significante nas duas datas estudadas. O processo inflamatório evoluiu com perda da arquitetura da mucosa, diminuição de células caliciforme e infiltrado celular inflamatório acentuado ao longo de toda parede do colo no 7º dia após indução da colite. No entanto, no 14º dia, observou-se recuperação da arquitetura de mucosa, porém, ainda apresentava áreas de lesão com espessamento da parede e infiltrado celular nos três subgrupos estudados. A suplementação intragástrica com fibra solúvel e FOS nesse modelo de colite por TNBS não modificou os parâmetros inflamatórios avaliados no 7º e 14º dias após indução da colite.

Os estudos da literatura, de um modo geral, são controvertidos quanto ao uso de fibras e prebiótico na doença inflamatória e nos modelos de colite. São aplicados métodos e usadas amostras e parâmetros de avaliação distintos. Porém, há pesquisas que demonstraram efeitos benéficos da suplementação com fibra e prebiótico tanto na doença inflamatória, como em modelos de colite (FERNÁNDEZ-BANARES et al., 1999; KANAUCHI et al., 1999, 2002; VIDELA et al., 2001; FUDUKA

et al., 2002; RODRIGUEZ-CABEZAS et al, 2002, 2003; CHERBUT; MICHEL; LECANNU, 2003; HALLERT et al, 2003).

Estudo multicêntrico, controlado, em portadores de RCUI comparando o uso da semente de *Plantago ovata*, mesalazina e a associação de ambos. Constataram falha no tratamento em 40% no grupo do *Plantago ovata*, 35% na mesalazina e 30% em ambos. A manutenção da remissão da doença após um ano foi semelhante nos três grupos. Os resultados demonstraram que as fibras (semente de *Plantago ovata*) são bem toleradas em portadores de RCUI na fase de remissão e podem apresentar eficácia semelhante à mesalazina na dose utilizada. As fibras podem constituir uma opção em portadores de intolerância, alergia e contra-indicação aos salicilatos (FERNÁNDEZ-BANARES et al., 1999).

Galaandi e Allgaier (2002), analisaram 15 estudos controlados randomizados e pesquisados no Medline e Biblioteca Cochrane objetivando avaliar o efeito terapêutico da dieta no tratamento das doenças inflamatórias inespecíficas intestinais. Observaram que a terapêutica nutricional enteral na fase aguda da DC é menos eficaz que o tratamento com corticosteroides. Com relação ao efeito da dieta na RCUI, em onze estudos publicados, constataram efeito positivo somente em um estudo que utilizou restrição dietética como medida terapêutica. Concluíram que os estudos que utilizaram a suplementação dietética não apresentaram resultados bem determinados.

Hallert et al. (2003) realizaram estudo randomizado em portadores de colite ulcerativa quiescente. Utilizaram a suplementação oral de fibra (total de 20 g por dia). Demonstraram melhora clínica a partir da quarta semana, associado a controle da doença nas doze semanas de duração do estudo. Evidenciaram também aumento na concentração fecal do butirato nos pacientes. Portanto, são necessários novos estudos por período prolongado.

A presente pesquisa, quando comparados os seus resultados aos da literatura, se observa que alguns aspectos do método são distintos. No entanto, outros aspectos podem ser comparáveis, apresentando resultados divergentes com alguns estudos e concordantes em outros.

Rodriguez-cabezas et al. (2002) avaliaram os efeitos da semente do *Plantago ovata* em modelo de colite por TNBS. Utilizaram parâmetros de avaliação inflamatória com escores macroscópico e microscópico, além da dosagem do TNF- α e óxido nítrico. Somente o escore macroscópico foi semelhante ao do presente

estudo. No entanto, a dose do TNBS utilizada foi a metade (10 mg) da dose utilizada nesse estudo. A fibra escolhida foi a semente de *Plantago ovata*- 5% acrescida na composição da ração. Isto impossibilitou precisar a quantidade ingerida diariamente. O tempo de uso da fibra foi semelhante ao desse estudo, 14 dias antes da indução da colite. Os resultados demonstraram redução na inflamação em todos os parâmetros avaliados no 7º dia após indução da colite. Seus achados foram divergentes aos resultados do atual estudo. Tal fato poderia ser justificado pela dose duas vezes maior do TNBS aqui utilizada.

Os mesmos pesquisadores (RODRIGUEZ-CABEZAS et al, 2003) avaliaram também a suplementação com fibras (sementes do *Plantago ovata*-5 %) em modelo de colite espontânea (ratos transgênicos HLA-B27). Demonstraram regressão da inflamação, conforme os parâmetros avaliados. Após treze semanas, foi evidenciada redução significativa nos parâmetros macroscópico, microscópico e nas medidas dos mediadores inflamatórios (óxido nítrico, leucotrieno B₄ e TNF- α). Não houve redução na MPO. Esse modelo é completamente distinto do modelo da colite induzida por TNBS.

Cherbut, Michel e Lecannu (2003) estudaram a suplementação de FOS no modelo de colite por TNBS. Fizeram avaliação pelo uso de escore macroscópico, medidas da atividade da enzima MPO, concentração de lactato, butirato e pH no conteúdo do ceco. A Concentração do TNBS foi idêntica ao presente estudo. Da mesma forma, a suplementação de 2 g/dia do FOS pela via intragástrica (gastrostomia) foi semelhante. O tempo de infusão foi iniciado 7 dias antes da indução. O escore macroscópico utilizado foi semelhante sendo acrescido de duas outras pontuações (presença de aderências e diarreia). Tais parâmetros não constam no escore macroscópico do presente estudo. Os autores demonstraram redução significativa no escore macroscópico, na atividade da enzima MPO, no pH e elevação nas concentrações de butirato e lactato no ceco, no 14º dia após indução da colite com suplementação com FOS. Não foi realizada avaliação microscópica. O presente estudo utilizou método semelhante ao do estudo de Cherbut, Michel e Lecannu (2003), mas os resultados foram divergentes. Comparando ambos os estudos, observou-se que os animais do estudo de Cherbut, Michel e Lecannu, (2003) evoluíram com escore macroscópico mais elevado no 14º dia após indução, mesmo considerando dois parâmetros a mais nesse escore. Provavelmente, pelo fato do escore macroscópico demonstrado no estudo de Cherbut, Michel e Lecannu,

(2003) ter se apresentado com valores mais elevados, apesar da avaliação no 14º dia, foi evidenciada redução significativa na resposta inflamatória quando comparado com o grupo suplementado com FOS. Já, no presente estudo, o escore macroscópico no 14º dia apresentou pontuação menor e não houve diferença significativa no subgrupo suplementado com FOS ao comparar com subgrupo água.

Moreau et al. (2003) compararam três tipos diferentes de dieta (basal, FOS e amido resistente) em modelo de colite por sulfato sódico de dextrano. As dietas foram formuladas com conteúdo de fibras diferente e iniciadas sete dias antes da indução. Foram avaliados no 7º e 14º dias após indução da colite através da relação peso do colo/tamanho do colo, escores macroscópico, microscópico e dosagem das concentrações dos ácidos graxos no ceco e sangue. Demonstraram resultados distintos entre os grupos quanto à produção de ácidos graxos e butirato, assim como à resposta inflamatória. O grupo que utilizou o amido resistente apresentou redução significativa na resposta inflamatória evidenciada pelos escores macroscópico e microscópico no 7º e 14º dias quando comparado com os grupos que utilizaram FOS e dieta basal. Os autores sugeriram que os substratos produzidos podem variar de acordo com as fibras utilizadas. O grupo que utilizou FOS produziu menor quantidade de ácidos graxos no ceco comparado ao grupo que utilizou amido resistente. Esses achados podem ser justificados pelas alterações na colonização de bactérias no colo na vigência da RCUI. Têm sido evidenciado aumento na população de bactérias patogênicas, redutoras de sulfato, resultando no aumento de sulfitos e mercaptanos (PITCHER; BEATTY; GIBSON, 1995; ROEDIGER; MOORE; BABIDGE, 1997). Esses compostos podem alterar a oxidação do butirato (ROEDIGER et al., 1993a, b; STEIN et al., 1995; PITCHER). Essas alterações estão associadas à redução na flora bacteriana não patogênicas (bifidobactérias e lactobacilos) com conseqüente redução da fermentação bacteriana do FOS resultando em menor produção de ácidos graxos de cadeia curta. Por esta razão, no grupo FOS, a redução no pH intestinal foi transitória, contrariamente, ao grupo que utilizou amido resistente quando o pH permaneceu ácido inibindo o crescimento de bactérias patogênicas (redutoras de sulfato). Da mesma forma, o aumento na síntese de mucina relaciona-se com aumento de ácidos graxos de cadeia curta e redução no pH intestinal (BUSTOS-FERNANDEZ et al., 1978; FINNE et al., 1995). Por conseguinte, a fermentação resultante da metabolização do amido-resistente, produziu mais ácidos graxos, aumentando a

produção de muco, resultando em efeito protetor da mucosa. Os resultados demonstraram que não houve alteração nos parâmetros inflamatório avaliados no grupo que utilizou FOS (MOREAU et al., 2003) . Esses achados são semelhantes aos do presente estudo, mesmo sendo utilizado modelos distintos de colite. Também nesse estudo foi evidenciado que o FOS apresentou aumento na relação peso do colo / tamanho do colo no 14º dia após indução da colite. Tal achado foi semelhante ao do presente estudo.

Videla et al. (2001) utilizaram a inulina, um outro prebiótico, com percentual de 15 a 40% de cadeias de polissacarídeos. Realizaram a suplementação por infusão intragástrica (400 mg/dia). Utilizaram o modelo de colite com sulfato sódico de dextrano. A suplementação foi iniciada nove dias antes da indução e os animais avaliados no 5º dia após indução. Os resultados demonstraram redução no percentual da área inflamada avaliada pelo uso de escore microscópico, medida da atividade da enzima mieloperoxidase e redução na liberação de mediadores inflamatórios (tromboxano B2, leucotrieno B4 e prostaglandina E2). Mesmo apresentando número reduzido de cadeia de polissacarídeos, a inulina reduziu a resposta inflamatória no modelo com sulfato sódico de dextrano, avaliados no 5º dia. Esses resultados são divergentes do atual estudo, que utilizou o FOS, com 95% de cadeias curtas de polissacarídeos. A maior quantidade de cadeias de polissacarídeos se relaciona com a maior produção de ácidos graxos.

Ao comparar os animais dos dois subgrupos que utilizaram água, sendo um do grupo sem colite (ESC1) e outro do grupo colite (EC1), os resultados apresentaram diferenças significantes. O subgrupo EC1 apresentou elevação significativa nos parâmetros inflamatório avaliados. Os animais desse grupo apresentaram redução significativa nos pesos no 7º dia de avaliação. No entanto, no 14º dia não houve diferença significativa. Quanto à relação peso do colo / tamanho do colo foi evidenciado aumento significativo no subgrupo EC1 no 7º e 14º dias de avaliação. Da mesma forma, foi evidenciado aumento nos escores macroscópico e microscópico no 7º e 14º dias de avaliação após a indução da colite no subgrupo EC1. Com esses resultados, foi evidenciada reprodução do modelo de colite por TNBS nesse estudo. Esses resultados são comparáveis aos da literatura (YAMADA et al., 1992; BOBIN-DUBIGEON et al., 2001).

O estudo metabólico na doença inflamatória possibilitou evidenciar que alterações na utilização (captação e metabolização) do butirato podem implicar em

danos celulares e estão relacionadas com a fisiopatogenia da doença inflamatória (ROEDIGER, 1980). No entanto, os estudos são controversos, e utilizam métodos distintos. Alguns são realizados *in vivo* (DEN HOND et al., 1998; JACOBASCH et al., 1999; SIMPSON et al., 2000; MOREAU et al., 2004) enquanto outros *in vitro* (ROEDIGER, 1980; CLAUSEN; MORTENSEN, 1995; JORGENSEN; MORTENSEN, 1999, 2001; AHMAD et al., 2000; RODRIGUEZ-CABEZAS et al., 2003), dificultando correlacionar e interpretar os resultados de forma mais definida.

Roediger (1980) realizou o primeiro estudo relacionado com as alterações metabólicas em portadores de RCUI aguda e quiescente. Utilizou colonócitos isolados de portadores de RCUI aguda e quiescente e adicionou ácidos graxos e glicose. Demonstrou, *in vitro*, redução na oxidação do butirato em CO₂ em indivíduos com colite quando comparados a indivíduos normais. Tal fato foi associado ao aumento compensatório na utilização de glicose e glutamina, evidenciado pelas medidas elevadas de lactato e amônia.

Clausen e Mortensen (1995) realizaram estudo cinético *in vitro* com colonócitos isolados de portadores de RCUI ativa semelhante ao método aplicado no estudo de Roediger e Truelove (1979). Utilizaram ácidos graxos de cadeia curta e glicose como substratos oxidativos. Demonstraram que não há alterações no metabolismo dos ácidos graxos em colonócitos isolados de portadores de RCUI. No entanto, evidenciaram que o butirato, mesmo em baixas concentrações, produz mais energia do que acetato e propionato. Também a oxidação da glicose foi inferior à dos ácidos graxos. Não evidenciaram aumento na produção de CO₂, semelhante aos resultados de Chapman, Grahm e Boyle (1994).

Den Hond et al. (1998) realizaram estudo *in vivo*, comparando portadores de RCUI ativa, colite quiescente e indivíduos normais. Utilizaram enema de butirato com carbono marcado e avaliaram a medida de CO₂ no ar expirado, nas fezes e a permeabilidade celular. Relacionaram os resultados com os enemas de butirato realizados em tempo distinto de contato. Demonstraram redução na oxidação do butirato associada ao aumento da sua excreção nas fezes. Também houve aumento da permeabilidade celular, em portadores de colite aguda. No entanto, na colite quiescente e em indivíduos sadios do grupo controle, não foram demonstradas alterações no metabolismo do colonócito. O tempo de contato do enema apresentou impacto na metabolização do butirato. No entanto, não foi o principal fator de diferença nos resultados apresentados entre colite aguda, quiescente e controle.

Determinados processos celulares são dependentes de desprendimento de energia, tais como as trocas hidro-eletrolíticas, a síntese de mucina, de lipídeos, de proteínas e a eliminação de substâncias tóxicas. Por isso a redução na produção de energia pode resultar em alterações e danos celulares (BINDER ; MEHTA; 1989; ROEDIGER; KAPANIRIS; MILLARD, 1992; FINNE et al., 1995). Dessa forma, estes autores concluíram que a redução na oxidação do butirato não constitui um defeito primário na RCUI, pois foi evidenciada apenas na fase aguda da doença (DEN HODEN et al., 1998).

Jorgensen e Mortensen (1999) não identificaram alterações na produção de corpos cetônicos e CO₂ em portadores de RCUI aguda e de colite quiescente comparados com àquela encontrada em indivíduos normais. Realizaram estudo *in vitro* em ratos. Adicionaram homogenados fecais de portadores de colite aguda, quiescente e pacientes normais no meio de incubação com butirato de colonócitos isolados de ratos, com o objetivo de verificar a captação de butirato e produção de corpos cetônicos. Da mesma forma, em outro estudo *in vitro*, os autores (JORGENSEN; MORTENSEN, 2001) demonstraram que não houve alteração na produção de corpos cetônicos e CO₂ em portadores de RCUI e DC quando comparada a produção destes metabólitos com a encontrada em indivíduos normais. Avaliaram o metabolismo estudando segmentos de mucosa do colo incubados com ácidos graxos marcados.

Jacobasch et al. (1999) realizaram estudo *in vivo*, em modelos de colite por TNBS, em ratos. Avaliaram as concentrações de ácidos graxos de cadeia curta em fragmentos do ceco e colo e relacionaram com às do conteúdo fecal. Compararam grupos que utilizaram suplementação com amido resistente com dieta livre. Evidenciaram inibição na absorção dos três ácidos graxos de cadeia curta a partir do 3º até 13º dia de indução da colite em ambos os grupos. No entanto, no grupo com suplementação com amido resistente, a inibição de captação de ácidos graxos foi reduzida.

Simpson et al. (2000) demonstraram que não houve alterações no metabolismo em portadores de RCUI quiescente. Realizaram estudo *in vivo* avaliando as medidas de CO₂ no ar expirado, calorimetria indireta, permitindo calcular o gasto de energia e o quociente respiratório relacionado ao peso e à idade. Essas medidas foram realizadas uma hora após a ingestão de dieta com proteínas (20%), gorduras (25%) e carboidratos (55%). Houve também a aplicação de butirato

sob a forma de enema. Contrariamente, Ahmad et al. (2000) estudaram, *in vitro*, metabolismo em colonócitos isolados em modelo de colite induzida por sulfato sódico de dextrano. Utilizaram o butirato e a glicose como substratos energéticos. Demonstraram redução no metabolismo do butirato associado ao aumento na oxidação da glicose com elevação nos níveis de lactato. Concomitantemente, foi observada redução na produção de CO₂ e corpos cetônicos, especialmente do beta-hidroxibutirato, sugerindo redução na beta-oxidação do butirato. Não houve alteração no ciclo de Krebs, já que não ocorreram alterações na oxidação da glicose. Essas observações foram evidenciadas a partir do sexto dia, sendo correlacionadas com a intensidade da colite.

Rodriguez-Cabezas et al. (2003) demonstraram, em modelos de colite com ratos transgênicos HLA-B27, redução na concentração do butirato quando comparado com grupo controle. Quando essa avaliação foi realizada após suplementação com fibra (semente de *Plantago ovata*), ocorreu aumento nas concentrações de butirato e propionato. O estudo foi realizado *in vitro* com colonócitos incubados com e sem adição de fibra.

Moreau et al. (2004) avaliaram *in vivo* as concentrações sanguíneas de butirato, corpos cetônicos e CO₂, na aorta e veia porta de ratos. Para tanto, utilizaram a infusão cecal com butirato marcado em modelos de colite com dextran e sulfato de sódio e nos grupos suplementados com dieta basal e amido resistente. Observaram que no grupo submetido à colite, a captação do butirato e oxidação em CO₂ foi menor quando comparado ao grupo controle na fase aguda. Já na fase crônica, não foi evidenciada diferença. Essa mesma avaliação foi realizada nos grupos com dieta basal e suplementados com amido resistente. Foi evidenciado que a captação do butirato e oxidação em CO₂ não se alteraram na fase aguda mesmo com aumento na concentração cecal de butirato. Já na fase crônica, o grupo que utilizou amido resistente apresentou aumento na captação do butirato, quando comparado com grupo que utilizou dieta basal.

No presente estudo, foi avaliado o metabolismo no tecido cólico de ratos também nas três situações distintas: Nos grupos sem colite (GESC) (tecido cólico normal) e com colite induzida por TNBS (GEC), comparando os três subgrupos entre si (água, fibra solúvel e FOS). E foram também comparados os dois subgrupos que utilizaram água potável, sendo um ESC1 e outro EC1. Nos dias determinados para a avaliação, os fragmentos do tecido cólico foram retirados do colo esquerdo,

sempre na mesma posição, ainda com o animal vivo. Foram aferidas as concentrações *in vivo* dos corpos cetônicos (3-hidroxibutirato, acetoacetato), piruvato, lactato, e ATP. Também foi avaliado o estado redox indireto no tecido cólico *in vivo* na mitocôndria e no citoplasma pelas medidas das relações das concentrações do [acetoacetato]/[3-hidroxibutirato] e [piruvato]/[lactato] respectivamente.

Os corpos cetônicos (3-hidroxibutirato, acetoacetato e acetona) são produzidos no fígado a partir da oxidação dos ácidos graxos de cadeia longa. O 3-hidroxibutirato e acetoacetato são transportados para tecidos extra-hepáticos (músculo esquelético, cardíaco, córtex renal, cérebro, tecido cólico) através da circulação sanguínea onde são utilizados como substrato energético alternativo à glicose e oxidados através da via do ciclo do ácido cítrico para produção de energia requerida por esses tecidos. A acetona, produzida em menor quantidade é exalada (LEHNINGER; NELSON; COX, 2000). O colonócito tem capacidade de oxidar ácidos graxos de cadeia curta (butirato) em corpos cetônicos. Os ácidos graxos de cadeia curta são metabolizados (por beta-oxidação) na mitocôndria, produzindo acetil coenzima A (acetilCoA). Essa, por sua vez, pode formar corpos cetônicos ou ser oxidada no ciclo de Krebs, produzindo CO₂ e água, liberando ATP (FIRMANSYAH; PENN; LEBENTHAL, 1989; JORGENSEN; MORTENSEN, 1999, 2001)

O piruvato e lactato são formados por 3 moléculas de carbono a partir da glicólise. O piruvato pode ser oxidado produzindo CO₂ e liberando o seu grupo acetila para formar acetilCoA que é oxidada pelo ciclo do ácido cítrico. A troca de elétrons libera energia para síntese de ATP na mitocôndria. Outra via, o piruvato pode ser reduzido a lactato através da via da fermentação do ácido láctico (glicólise anaeróbica) (LEHNINGER; NELSON; COX, 2000).

As medidas das relações [acetoacetato]/[3-hidroxibutirato] e [piruvato]/[lactato] permitem apenas determinar indiretamente o estado redox no tecido cólico na mitocôndria e no citoplasma respectivamente. Já que não foram encontrados estudos na literatura consultada determinando a equação com variável fixa para o cálculo do estado redox no tecido cólico como foi demonstrado em estudo realizado no tecido hepático (WILLIAMSON; LOPES-VIEIRA; WALKER, 1967).

A análise das concentrações desse metabólitos possibilita avaliar o metabolismo do tecido cólico, *in vivo*, de forma estática, no momento exato da coleta do material nas diversas situações, mas não permite precisar o metabolismo

dinâmico. Porém essa metodologia utilizada é bem desenvolvida e exeqüível em nosso meio.

Não foi estudado o metabolismo específico do butirato no colonócito, pois esse não foi ofertado de forma isolada e marcado. Da mesma forma, não é possível quantificar a produção de energia, pois não foi realizado estudo cinético com ATP marcado, de forma semelhante a estudos da literatura supra citadas.

À avaliação metabólica no grupo sem colite realizadas no 7º e 14º dias após aplicação transanal de água, foi evidenciado aumento nas concentrações de acetoacetato no subgrupo com suplementação com fibra no 14º dia quando comparado com água e FOS, sugerindo que a oferta de fibra solúvel induziu aumento na produção de acetoacetato. Já, que os corpos cetônicos podem ser produzidos no colo a partir da beta-oxidação do butirato (produzido a partir da fermentação das fibras). No entanto, não ocorreram alterações na concentração dos corpos cetônicos totais e nem do 3-hidroxibutirato. Houve redução nas concentrações de piruvato no tecido cólico *in vivo*, no subgrupo com suplementação com fibra solúvel e FOS somente no 14º dia quando comparados com água. Sugere que a suplementação com fibras e FOS reduziu as concentrações de piruvato no tecido cólico normal devido ao aumento no consumo desse substrato resultante da sua maior produção, a partir de maior oferta de precursores, como a cadeia de polissacarídeos que constituem a goma guar e os frutooligossacarídeos. As cadeias de polissacarídeos são metabolizadas em glicose (glicólise), que por sua vez, produzem piruvato. A maior produção do piruvato resultou em maior consumo, maior utilização desse substrato no ciclo de Krebs para produção de energia no tecido cólico.

As concentrações tissulares do lactato mantiveram-se inalteradas. As concentrações de ATP foram reduzidas nos subgrupos com suplementação com fibra solúvel e FOS no 7º e 14º dias após aplicação transanal de água quando comparadas com o subgrupo não-suplementado. Este achado sugere que a suplementação com fibra e FOS induziu redução nas concentrações teciduais *in vivo* de ATP no colo normal devido ao aumento na sua produção, a partir de precursores energéticos (ácidos graxos de cadeia curta e cadeias de polissacarídeos), resultando em maior hidrólise de ATP. As fibras e FOS podem resultar em dois substratos distintos para produção de ATP por duas vias metabólicas. As cadeias de polissacarídeos (goma guar hidrolisada e FOS) são metabolizadas em glicose, pela

glicólise, resultando na produção do piruvato. Por outro lado, a fermentação das fibras e FOS produzem ácidos graxos de cadeia curta (butirato). Ambos substratos produzem acetilcoA que entra no ciclo de Krebs para produção de energia, CO₂ e água. No entanto, não foi evidenciada alteração no estado redox no tecido cólico nos subgrupos estudados em ambos os dias de avaliação.

No grupo de animais submetidos à colite por TNBS foi demonstrado que as concentrações aferidas dos corpos cetônicos (3-hidroxibutirato e acetoacetato) mantiveram-se inalteradas. Tal achado sugere que a suplementação com fibra solúvel e FOS não alterou a captação e/ou síntese dos corpos cetônicos no tecido cólico *in vivo* mesmo na vigência da colite. Jorgensen e Mortensen (1999) demonstraram produção dos corpos cetônicos inalterado em portadores de RCUI quando comparados com indivíduos normais. Sugerem que não há alteração no metabolismo do butirato em portadores de RCUI aguda e quiescente. No entanto, utilizaram método distinto desse estudo. Avaliaram através de estudo *in vitro* com colonócito isolado de ratos e incubados com butirato. Adicionaram nesse meio homogenado de fezes de portadores de colite aguda, colite quiescente e indivíduos normais. Esse resultados divergem com os de Ahmad et al. (2000). Esses autores demonstraram redução no metabolismo do butirato resultando em diminuição na síntese dos corpos cetônicos (beta-hidroxibutirato) na vigência da colite induzida por sulfato sódico de dextrano. Realizaram estudo *in vitro*, utilizando colonócito isolado e incubado com glicose e butirato.

Quanto às concentrações do piruvato no presente estudo apresentaram-se elevadas no subgrupo da suplementação com fibra solúvel no 14º dia após indução da colite ao comparar com os subgrupos que utilizaram água. Sugere menor utilização (redução na oxidação) desse substrato, devendo-se possivelmente à oferta de precursores energéticos (ácidos graxos de cadeia curta-butirato), resultantes da fermentação das fibras. Tal achado pode ser explicado pela utilização preferencial do butirato para produção de energia pelo tecido cólico com colite, já em recuperação (14º dia após indução). Esses resultados são comparáveis aos demonstrados por Moreau et al. (2004). Avaliaram as alterações metabólicas em modelos de colite por sulfato sódico de dextrano na fase aguda e crônica, utilizando a dieta basal e o amido resistente. Foi evidenciada, no grupo com suplementação com amido resistente, a utilização do butirato na fase crônica da colite (14º dia). Mas os autores aplicaram método distinto do presente estudo. Realizaram também

estudo *in vivo* mas avaliaram as concentrações de butirato, corpos cetônicos e CO₂ no sangue venoso e arterial após aplicação cecal de butirato marcado.

Por outro lado, esse mesmo achado não ocorreu no subgrupo suplementados com FOS em animais colíticos, no 14º dia após a indução. Tal fato poderia ser explicado por alterações na composição da flora do colo induzida pela presença da colite. Na RCUI, ocorre elevação na colonização de bactérias patogênicas, redutoras de sulfato, resultando no aumento de sulfitos e mercaptanos (PITCHER; BEATTY; GIBSON, 1995; ROEDIGER, 1997). Ocorre também redução na flora bacteriana não patogênica (bifidobactérias e lactobacilos) com conseqüente redução da fermentação bacteriana do FOS e menor produção de ácidos graxos de cadeia curta (MOREAU et al., 2003). Sugere que essas alterações resultaram em menor oferta de precursores (ácidos graxos de cadeia curta-butirato) e possível utilização do piruvato para produção de energia. Por essa razão, as concentrações desse substrato não se elevou no subgrupo FOS.

No presente estudo, as concentrações de lactato mantiveram-se inalteradas. As concentrações de ATP diminuíram nos subgrupos com suplementação com fibra solúvel e FOS no 7º e 14º dias após indução da colite ao comparar com a água. Tal redução sugere maior hidrólise de ATP decorrente da sua maior produção resultante do aumento na oferta de precursores (ácidos graxos de cadeia curta) produzidos pelo metabolismo das fibras e FOS. No entanto, não foi evidenciada alteração no estado redox no tecido cólico nos três subgrupos com colite em ambos os dias de avaliação.

Quanto à avaliação metabólica do tecido cólico *in vivo* comparando os dois subgrupos que utilizaram água, sendo um GESC1 e outro do GEC1 nos dias estabelecidos para avaliação (7º e 14º dias), foi demonstrada elevação nas concentrações dos corpos cetônicos no GEC1 no 7º dia após indução da colite. Sugere aumento na sua captação. Esses substratos podem ser utilizados para produção de energia como alternativa a glicose. No entanto, as concentrações isoladas do 3-hidroxibutirato e acetoacetato não se modificaram.

Houve redução nos níveis de piruvato no GEC1 no 7º e 14º dias após indução da colite, comparado com o GESC1. Tal fato sugere conversão do piruvato em AcetilCoA e seu subsequente uso no ciclo de Krebs para produção de energia no tecido cólico colítico. Não foram evidenciadas alterações nas concentrações de lactato nos subgrupos, sugerindo ser a produção de energia pela via aeróbica.

As concentrações de ATP não se alteraram. No entanto, foi evidenciado redução significativa nas concentrações das relações [acetoacetato]/[3-hidroxibutirato] e [piruvato]/[lactato] no GEC1 no 7º dia de avaliação. Já, no 14º dia não houve alterações nessas relações. Este fato pode ser explicado pelo processo inflamatório intenso (7º dia) diminuindo a capacidade oxidativa no tecido cólico. Esses achados sugerem que a colite não induziu alterações significante na produção final de energia mesmo com redução no estado redox do tecido cólico, aumento na captação de corpos cetônicos e maior utilização do piruvato no ciclo de Krebs.

O presente trabalho demonstra que a fibra solúvel e os oligossacarídeos são metabolizados *in vivo* de forma semelhante no tecido cólico normal e em tecido cólico com colite induzida por TNBS. Houve aumento de precursores oligo e polissacarídeos para a glicólise, e aumento de ácidos graxos de cadeia curta, especialmente o butirato, para β -oxidação no colo. A utilização de duas vias metabólicas talvez explique a eficácia tanto da fibra solúvel quanto dos frutooligossacarídeos, na geração de energia, tanto no tecido cólico normal quanto em tecido cólico na vigência da colite nas duas fases (aguda e crônica).

Porém, não foram evidenciadas modificações na evolução do processo inflamatório tanto na fase aguda, quanto na crônica nos grupos suplementados com fibra solúvel e FOS. Novos estudos são necessários para esclarecer o papel das fibras e prebióticos no processo inflamatório no intestino grosso.

6 CONCLUSÃO

1- A suplementação intragástrica com fibra solúvel e com FOS, no modelo de colite por TNBS, não altera os parâmetros inflamatórios avaliados na fase aguda e crônica após o início da colite.

2- A suplementação intragástrica com fibra solúvel e com FOS eleva a oferta de precursores para produção de energia, alterando as concentrações *in vivo* de ATP, no tecido cólico normal, e no mesmo tecido na vigência da colite induzida por TNBS tanto na fase aguda quanto na crônica.

3- As concentrações *in vivo* de ATP em tecido cólico na vigência da colite aguda e crônica induzida por TNBS são semelhantes às concentrações determinadas em tecido cólico normal.

7 REFERÊNCIAS

ABIA, R.; MAÑAS, E.; GOÑI, I.; SAURA-CALIXTO, F. Fibra alimentaria y su relación con enfermedades cardiovasculares. **Nutr. Clin.**, v. 9, n. 5, p. 155-164, 1989.

AHMAD, M.S.; KRISHNAN, S.; RAMAKRISHNA, B.S. et al. Butyrate and glucose metabolism by colonocytes in experimental colitis in mice. **Gut**, v. 493, p. 493-499, 2000.

ALLGAYER, H.; DESCHRYVER, K.; STENSON, W.F. Treatment with 16,16-dimethyl prostaglandin E2 before and after induction of colitis with trinitrobenzene sulfonic acid in rats decreases inflammation. **Gastroenterology**, v. 20, p. 1290-1300, 1989.

ANDERSON, J.W. High-fibre diets for diabetic and hypertriglyceridemic patients. **Can. Med. Assoc. J.**, v. 123, n. 10, p. 975-979, 1980.

ANDOH, A.; BAMBA, T.; SASAKI, M. Physiological and Anti-Inflammatory Roles of Dietary Fiber and Butyrate in intestinal Functions. **J. Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 23, n. 5, p. S70-S73, 1999.

APPLEYARD, C.B.; WALLACE, J.L. Reactivation of of hapten-induced colitis and its prevention by anti-inflammatory drugs. **Am J Physiol**, v. 269, p. 119-125, 1995.

ARAKI, Y.; ANDOH, A.; KOYAMA, S. et al. Effects of germinated barley foodstuff on microflora and short-chain fatty acid production in dextran sulfate sodium-induced colitis in rats. **Biosci. Biotechnol. Biochem**, v. 64, p. 1794-1800, 2000.

ARDAWI, M.S.M.; NEWSHOLME, E.A. Fuel utilization in colonocytes of the rat. **Biochem J**, v. 231, p. 713, 1985.

ARO, A.; UUSITUPA, M.; VOUTILAINEN, E. et al. Improved diabetic control and hypocholesterolaemic effect induced by long-term dietary supplementation with guar gum in type 2 (insulin-independent) diabetes. **Diabetologia**, v. 21, p. 29, 1981.

BARGEN JA. Experimental studies on the etiology of chronic ulcerative colitis. **J AM Med Assoc**, v. 83, p. 336-332, 1924.

BEBB Jr, S. How effective are the usual treatment for Crohn's disease. **Aliment. Pharmacol. Ther.**, v. 20, n. 2, p. 151-159, 2004.

BERMEJO, F.; LOPEZ-SANROMAN, A.; HINOJOSA, J. et al. Infliximab induces clinical, endoscopic and histological responses in refractory ulcerative colitis. **Rev. Esp. Enferm. Dig.**, v. 96, n. 2, p. 94-101, 2004.

BINDER, H.J.; MEHTA, P. Short chain fatty acids simulate active Na and Cl absorption in vitro in the rat distal colon. **Gastroenterology**, v. 96, p. 989-996, 1989.

BOBIN-DUBIGEON, C; COLLIN, X; GRIMAUD, N.; ROBERT, JM; LE BAUT, G.; PETIT, JY. Effects of tumour necrosis factor- α synthesis inhibitors on rat trinitrobenzene sulphonic acid-induced chronic colitis. **European J Pharmacology**, v. 431, p. 103-110, 2001.

BONADA SANJAUME, A.; SOLÁ ALBERICH, R. Dieta en el manejo del paciente cardiovascular. **Rev. Lat. Cardiol.**, v. 19, p. 47-57, 1998.

BREUER, R.I.; BUTO, S.K.; CHRIST, M.L. et al. Rectal irrigation with short-chain fatty acids for distal ulcerative colitis. Preliminary report. **Dig. Dis. Sci.**, v. 36, p. 185-187, 1991.

BREUER, R.I.; SOERGEL, K.H.; LASHNER, B.A. et al. Short chain fatty acid rectal irrigation for left-sided ulcerative colitis: a randomized, placebo-controlled trial. **Gut**, v. 40, p. 485-491, 1997.

BROBERGER, O. Immunologic studies in ulcerative colitis. **Gastroenterology**, v.47, p. 229-40, 1964.

BUSTOS-FERNANDEZ, L.; DE PAOLO, I.L.; HAMAMURA, S. et al. Does secretin influence rat colonic absorption and secretion. **Am. J. Gastroenterol.**, v. 70, p. 265-269, 1978.

BUTZNER, J.D.; PARMAR, R.; BELL, C.J.; DALAL, V. Butyrate enema therapy stimulates mucosal repair in experimental colitis in the rat. **Gut**, v. 38, n. 4, p. 568-573, 1996.

CASTRO, B.; CRESPO, J.; GARCIA-SUAREZ, C. et al. Triple immunosuppressive therapy in the treatment of severe ulcerative colitis. **Gastroenterol. Hepatol.**, v. 27, n. 1, p. 1-5, 2004.

CEREDIG, R.; HENDERSON, D.C.; NAIRIN, R.C. Experimental model of ulcerative colitis. **Nature**, v. 266, p. 74-5, 1977.

CHAPMAN, M.A.; GRAHN, M.F.; BOYLE, M.A. Butyrate oxidation is impaired in the colonic mucosa of sufferers of quiescent ulcerative colitis. **Gut**, v. 35, p. 73-76, 1994.

CHERBUT, C.; MICHEL, C.; LECANNU, G. The Prebiotic Characteristics of Fructooligosaccharides Are Necessary for Reduction of TNBS-Induced Colitis in Rats. **J. Nutr.**, v. 133, p. 21-27, 2003.

CLAUSEN, M.R.; MORTENSEN, P.B. Kinetic studies on colocyte metabolism of short chain fatty acids and glucose in ulcerative colitis. **Gut**, v. 37, n. 5, p. 684-689, 1995.

CUMMINGS, J.H.; ENGLYST, H.N. Fermentation in the human large intestine and the available substrate. **Am J Clin Nutr**, v. 45, p. 1243-1255, 1987a.

CUMMINGS, J.H.; POMARE, E.W.; BRANCH, W.J. et al. Short chain fatty acids in human large intestine, portal, hepatic and venous blood. **Gut**, v. 28, p. 1221-1227, 1987b.

DAS, K.M.; EASTWOOD, M.A.; McMANUS, J.P.A. et al. The Role of the colon in the metabolism of salicylazosulphapyridine. **Scand. J. Gastroenterol.**, v. 9, p.137-41, 1974.

DEN HOND, E.; HIELE, M.; EVENEPOEL P.; PEETERS, M.; GHOOS, Y.; RUTGEERTS, P. In vivo butyrate metabolism and colonic permeability in extensive ulcerative colitis. **Gastroenterology**, v. 115, p. 115-584, 1998.

DIELEMAN, L.A.; PENA, A.S.; MEUWISSEN, S.G.M. Role of animal models for the pathogenesis and treatment of inflammatory bowel disease. **Scand J Gastroenterol**, v. 223, p. 223-299, 1997.

ELSON, C.O.; SARTOR, R.B.; TENNYSON, G.S. et al. Experimental models of inflammatory bowel disease. **Gastroenterology**, v. 109, p. 1344-1367, 1995.

FERNANDEZ-BAÑARES, F.; HINOJOSA, J.L.; SANCHEZ-LOMBRAÑA et al. Randomized clinical trial of *Plantago ovata* seeds (dietary fiber) as compared with mesalamine in maintaining remission in ulcerative colitis. **Am. J. Gastroenterol.**, v. 94, p. 427-433, 1999.

FESTING, M.F.W. Suitability of the rat for different investigations. IN: laboratory animals, mouse and rat. Bethesda, **Fed Am. Soc. Exp. Biol.**, v.1, p.237-238, 1979.

FINNIE, I.; DWARAKANATH, A. TAYLOR, B. et al. Colonic mucin synthesis is increased by sodium butyrate. **Gut**, v. 36, p. 93-99, 1995.

FIRMANSYAH, A.; PENN, D.; LEBENTHAL, E. Isolated colonocyte metabolism of glucose, glutamine, n-butyrate, and beta-hydroxybutyrate in malnutrition. **Gastroenterology**, v. 97, p. 622-629, 1989.

FRASER, A.G.; ORCHARD, T.R.; JEWELL, D.P. The efficacy of azathioprine for the treatment of inflammatory bowel disease: a 30 year review. **Gut**, v. 50, n. 4, p. 485-489, 2002.

FUKUDA, M.; KANAUCHI, O.; ARAKI, Y. et al. Prebiotic treatment of experimental colitis with germinated barley foodstuff: a comparison with probiotic or antibiotic treatment. **Int. J. Mol. Med.**, v. 9, n. 1, p. 65-70, 2002.

GALANDI, D.; ALLGAIER, H.P. Diet therapy in chronic inflammatory bowel disease: results from meta-analysis and randomized controlled trials. **Schweiz Rundsch Med Prax.**, v. 91, n. 47, p. 2041-2049, 2002.

GIBSON, G.R.; BEATTY, E.R.; WANG, X.; CUMMINGS, J.H. Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. **Gastroenterology**, v. 108, p. 975-982, 1995a.

GIBSON, G.R.; ROBERFROID MB. Modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **J Nutr**, v. 125, p. 1401-1412, 1995b.

GLOTZER, D.J.; GLICK, M.E.; GOLDMAN, H. Proctitis and colitis following diversion of the fecal stream. **Gastroenterology**, v. 80, p. 438-441, 1981.

GUIMBAUD R, BERTRAND V, CHAUVELOT-MOACHON et al. Network of inflammatory cytokines and correlations with disease activity in ulcerative colitis. **Am J Gastroenterol**, v. 93, p. 2397-2404, 1998.

HABR-GAM, A., TEIXEIRA, M.G., BRUNETTI NETO, C. Retocolite Ulcerativa. In: PINOTTI, H.W. **Tratado de Clínica Cirúrgica do Aparelho Digestivo**. Atheneu. São Paulo. 1994. p.1168-1186.

HAENS, G.; VAN DEVENTER, S.; VAN HOGZAND, R. et al. Endoscopic and histological healing with infliximab anti-tumor necrosis factor antibodies in Crohn's disease: a European multicenter trial. **Gastroenterology**, v. 116, p. 1029-1034, 1999.

HALLERT, C.; BJORCK, I.; NYMAN, M. et al. Increasing fecal butyrate in ulcerative colitis patients by diet: controlled pilot study. **Inflamm Bowel Dis.**, v. 9, n. 2, p. 116-121, 2003.

HAMMER, R.E.; MAIKA, S.D.; RICHARDSON, J.A. et al. Spontaneous inflammatory disease in transgend rats expressing HLA-B27 and human beta 2m: an animal model of HLA-B27-associated human disorders. **Cell**, v. 63, p. 1099-1112, 1990.

HARIG, J.M.; SOERGEL, K.H.; KOMOROWSKI, R.A. et al. Treatment of diversion colitis with short chain fatty acid irrigation. **N. Engl. J. Med.**, v. 320, p. 23-28, 1989.

HAROLD, M.R.; REEVES, R.D.; BOLZE, M.S. et al. Effect of dietary fiber in insulin-dependent diabetics: insulin requirements and serum lipids. **Am J. Diet. Assoc.**, v. 85, p. 1455, 1985.

HERZOG, R. & LEUXCHNER, J. Experimental studies on the pharmacokinetics and toxicity of 5-aminosalicylic acid 0-sulfate following local and systemic application. **Arzneimittelforschung.**, v. 45, p. 300-303, 1995.

HINOJOSA, J. Anti-TNF antibodies in the treatment of intestinal inflammatory disease. **Gastroenterol. Hepatol.**, v. 23, n. 5, p. 250-257, 2000.

IRELAND, A. & JEWELL, D.P. Mechanism of action of 5-aminosalicylic acid and its derivatives. **Clini. Sci.**, v. 78, p. 119-125, 1990.

JACOBASCH, G.; SCHMIEDL, D. KRUSCHEWSKI, M.; SCHMEHL, K. Dietary resistant starch and chronic inflammatory bowel diseases. **Int J Colorectal Dis**, v. 14, p. 201-211, 1999.

JENSEN, C.D.; HASKELL, W.; WHITTAM, J.H. Long-term effects of water-soluble dietary fiber in the management of hypercholesterolemia in healthy men and women. **Am. J. Cardiol.**, v. 79, n. 1, p. 34-37, 1997.

JORGENSEN, J. R.; MORTENSEN, P.B. Influence of feces from patients with ulcerative colitis on butyrate oxidation in rat colonocytes. **Dig. Dis. Sci.**, v. 44, n. 10, p. 2099-2109, 1999.

JORGENSEN, J. R.; MORTENSEN, P.B. Substrate utilization by intestinal mucosal tissue strips from patients with inflammatory bowel disease. **Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.**, v. 281, n. 2, p. 405-411, 2001.

JUNG, H.C.; ECHMANN, L.; YANG, S.K. et al. A distinct array of proinflammatory cytokines is expressed in human colon epithelial cells in response to bacterial invasion. **J. Clin. Invest.**, v.95, p. 55-65, 1995.

KANAUCHI, O.; IWANAGA, T.; MITSUYAMA, K. et al. Butyrate from bacterial fermentation of germinated barley foodstuff preserves intestinal barrier function in experimental colitis in the rat model. **J. Gastroenterol. Hepatol.**, v. 14, p. 880-888, 1999.

KANAUCHI, O.; IWANAGA, T.; ANDOH, A. et al. Dietary fiber fraction of germinated barley foodstuff attenuated mucosal damage and diarrhea, and accelerated the repair of the colonic mucosa in an experimental colitis. **J. Gastroenterol. Hepatol.**, v. 16, p. 160-168, 2001.

KANAUCHI, O.; SUGA, T.; TOCHIHARA, M. et al. Treatment of ulcerative colitis by feeding with germinated barley foodstuff: first report of a multicenter open control trial. **J. Gastroenterol.**, v. 37, suppl. 14, p. 67-72, 2002.

KATZ, J.A. Treatment of inflammatory bowel disease with corticosteroids. **Gastroenterol. Clin. North Am.**, v. 33, n. 2, p. 171-189, 2004.

KIRSNER, J.B. Experimental "colitis" with particular reference to hypersensitivity reactions in the colon. **Gastroenterology**, v. 40, p. 307-311, 1961.

KRIPKE, S.A.; FOX, A.D.; BERMAN, J.M. Stimulation of intestinal mucosal growth with intracolonic infusion of short chain fatty acids. **JPEN**, v. 13, p. 109-116, 1989.

LE BLAY, G.; MICHEL, C.; BLOTTIERE, H.M.; CHERBUT, C. Prolonged intake of fructo-oligosaccharides induces a short-term elevation of lactic acid-producing bacteria and a persistent increase in cecal butyrate in rats. **J Nutr**, v. 129, p. 2231-2235, 1999.

LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. Enzimas. In: **Princípios da bioquímica**. São Paulo, Sarvier, 2ª. Ed., 2000 (a). cap. 14, 16, p. 297-327, 355-373.

LOPEZ-SANROMAN, A.; BERMEJO, F.; CARRERA, E. et al. Efficacy and safety of thiopurinic immunomodulators (azathioprine and mercaptopurine) in steroid-dependent ulcerative colitis. **Aliment. Pharmacol. Ther.**, v. 20, n. 2, p. 161-166, 2004.

MACPHERSON, B. & PFEIFFER, C.J. Experimental colitis. **Digestion**, v. 14, p. 424-452, 1976.

MACPHERSON, B. & PFEIFFER, C.J. Experimental production of diffuse colitis in rats. **Digestion**, v. 17, p. 135-150, 1978.

MANEIL, N.I.; CUMMINGS, J.H.; JAMES W.P.T. Short chain fatty acids absorption by the human large intestine. **Gut**, v. 19, p. 819, 1978.

MARX, S.P.; WINKLER, S.; HARMEIER, W. Metabolization of beta-(2,6)-linked fructose-oligosaccharides by different bifido-bacteria. **FEMS Microbiol. Lett.**, v. 182, p. 163-169, 2000.

MODIGLIANI, R. Corticoids in intestinal inflammatory diseases: use. **Gastroenterol. Clin. Boil.**, v. 23, p. 169-177, 1999.

MOREAU, N.M.; MARTIN, L.J.; TOQUET, C.S. et al. Restoration of the integrity of rat caeco-colonic mucosa by resistant starch, but not by fructo-oligosaccharides, in dextran sulfate sodium-induced experimental colitis. **Br. J. Surg.**, v. 90, p. 75-85, 2003.

MOREAU, N.M.; CHAMP, M.M.; GOUPRY, S.M.; LE BIZEC, B.J.; KREMPF, M.; NGUYEN, P.G.; DUMON, H.J.; MARTIN, L.J. Resistant starch modulates in vivo colonic butyrate uptake and its oxidation in rats with dextran sulfate sodium-induced colitis. **J Nutr.**, v. 134, n. 3, p. 493-500, 2004.

MORRIS, G.P.; BECK, P.L.; HERRIDGE, W.; DEPEW, W.; SZEWCZUK, M.R.; WALLACE, J.L. Hapten induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon. **Gastroenterology**, v. 96, p. 795-803, 1989.

MORTENSEN, F.V.; HESSOV, I.; BIRKE, H. et al. Microcirculatory and trophic effects of short chain fatty acids in the human rectum after Hartmann's procedure. **Br. J. Surg.**, v. 78, p. 1208-1211, 1991.

MUELLER, C. Tumour necrosis factor in mouse models of chronic intestinal inflammation. **Immunology**, v. 105, p. 1-8, 2002.

NICOLAUS, S.; FOLSCN, U.; SCHREIBER, S. et al. Immunopharmacology of 5-aminosalicylic acid and of glucocorticoids in the therapy of inflammatory bowel disease. **Hepatogastroenterology**, v. 47, p. 71-82, 2000.

OKAYASU, I.; HATAKEYAMA, S.; YAMADA, M. et al. A novel method in the induction of reliable experimental acute and chronic ulcerative colitis in mice. **Gastroenterology**, v. 98, p. 694-702, 1990.

ORTIZ, V.; NOS, P. AGUILERA, V. et al. Cyclosporin in an oral microemulsion as the initial treatment of corticoid-refractory ulcerative colitis. **Gastroenterol. Hepatol.**, v. 23, n. 3, p. 120-122, 2000.

PANES, J.; ESTEVE, M.; CABRE, E. et al. Comparison of heparin and steroids in the treatment of moderate and severe ulcerative colitis. **Gastroenterology**, v. 119, n. 4, p. 903-908, 2000.

PEPPERCORN, M.A. & GOLDMAN, P. The role of intestinal bacteria in the metabolism of salicylazosulfapyridine. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 181, p. 555-562, 1972.

PEPPERCORN, M.A. & GOLDMAN, P. Distribution studies of salicylazosulfapyridine and its metabolites. **Gastroenterology**, v. 64, p. 240-245, 1973.

PITCHER, M.C.L.; BEATTY, E.R.; GIBSON, G.R. Incidence and activities of sulphate-reducing bacteria in patients with ulcerative colitis. **Gut**, v. 36, p. A63, 1995.

PITCHER, M.C.; CUMMINGS, J.H. Hydrogen sulphide: a bacterial toxin in ulcerative colitis. **Gut**, v. 39, p. 1-4, 1996.

RACHMILCWITZ, D.; SIMON, P.L.; SCHWARTZ, L.W. et al. Inflammatory mediators of experimental colitis in rats. **Gastroenterology**, v. 97, p. 326-337, 1989.

RODRIGUEZ-CABEZAS, M.E.; GALVEZ, J.; LORENTE, M.D. et al. Dietary Fiber Down-regulates Colonic Tumor Necrosis Factor α and Nitric Oxide Production in Trinitrobenzenesulfonic Acid-Induced Colitic Rats. **J. Nutri.**, v. 132, p. 3263-3271, 2002.

RODRIGUEZ-CABEZAS, M.E.; GALVEZ, J.; CAMUESCO, D. et al. Intestinal anti-inflammatory activity of dietary fiber (*Plantago ovata* seeds) in HLA-B27 transgenic rats. **Clinical Nutrition**, v. 22, n. 5, p. 463-471, 2003.

ROEDIGER, W.E.W.; TRUELOVE, S.C. Method of preparing isolate colonic epithelial cells (colonocytes) for metabolic studies. **Gut**, v. 20, p. 484-488, 1979.

ROEDIGER, W.E. The colonic epithelium in ulcerative colitis: an energy deficient disease? **Lancet**, v. 2, p. 712-715, 1980.

ROEDIGER, W.E. Utilization of nutrients by isolated epithelial cells of the rat colon. **Gastroenterology**, v. 83, p. 424-429, 1982a.

ROEDIGER, W.E.; RAE, D.A. Trophic effect of short chain acids on mucosal handling of ions by the defunctioned colon. **Br J Surg**, v. 69, p. 23-25, 1982b.

ROEDIGER, W.E.; NANCE, S. Metabolic induction of experimental ulcerative colitis by inhibition of fatty acid oxidation. **Br J Exp Pathol**, v. 67, p. 773-782, 1986.

ROEDIGER, W.E.W. New directions in the aetiology of ulcerative colitis. **Aust N Z J Surg**, v. 60, p. 167-169, 1990.

ROEDIGER, W.E.W.; KAPANIRIS, O.; MILLARD, S. Lipogenesis from n-butyrate in colonocytes. Action of reducing agent and 5-aminosalicylic acid with relevance to ulcerative colitis. **Mol. Cell. Biochem.**, v. 118, p. 113-118, 1992.

ROEDIGER, W.E.; DUNCAN, A.; KAPANIRIS, O. et al. Reducing sulfur compounds of the colon impair colonocyte nutrition: implication for ulcerative colitis. **Gastroenterology**, v. 104, p. 802-809, 1993a.

ROEDIGER, W.E.; DUNCAN, A.; KAPANIRIS, O. et al. Sulphide impairment of substrate oxidation in rat colonocytes: a biochemical basis for ulcerative colitis. **Clin. Sci.**, v. 85, p. 623-627, 1993b

ROEDIGER W.E.; MOORE, J.; BABIDGE, W. Colonic sulfide in pathogenesis and treatment of ulcerative colitis. **Dig Dis Sci**, v. 42, p. 1571-1579, 1997.

ROGLER, G.; ANDUS, T. Cytokines in inflammatory bowel disease. **World J. Surg.**, v. 22, p. 382-389, 1998.

ROMBEAU, J.L.; KRIPKE, S.A. Metabolic and intestinal effects and short-chain fatty acids. **JPEN**, v. 14, p. 181-185, 1990.

ROYALL, D.; WOLEVER, T.M.S.; JEEJEEBHOY, K.N. Clinical significance of colonic fermentation. **Gastroenterology**, v. 85, p. 1307-1312, 1990.

SAKATA, T.; YAJIMA, T. Influence of short chain fatty acids on the epithelial division of the gastrointestinal tract. **Q J Exp Physiol**, v. 69, p. 639-648, 1984.

SANDBORN, W.J.; HANAUER, S.B. Antitumor necrosis factor therapy for inflammatory bowel disease: a review of agents, pharmacology, clinical results, and safety. **Inflamm. Bowel Dis.**, v. 5, n. 2, p. 119-133, 1999.

SANDBORN, W.J.; FEAGAN, B.G. The efficacy of azathioprine and 6-mercaptopurine for the prevention of postoperative recurrence in patients with Crohn's disease remains uncertain. **Gastroenterology**, v. 127, n. 3, p. 723-729, 2004.

SATOH, H.; SATO, F.; TAKAMI, K. et al. New ulcerative colitis model induced by sulphhydryl blockers in rats and the effects of anti-inflammatory drugs on the colitis. **Jpn. J. Pharmacol.**, v. 73, p. 299-309, 1997.

SCHEPPACH, W.; SOMMER, H.; KIRCHNER, T. et al. Effect of butyrate enemas on the colonic mucosa in distal ulcerative colitis. **Gastroenterology**, v. 103, p. 51-56, 1992.

SCHEPPACH, W. Effects of short chain fatty acids on gut morphology and function. **Gut**, v. 35, p. 35-38, 1994.

SCHEPPACH, W. & GERMAN-AUSTRIAN SCFA STUDY GROUP. Treatment of distal ulcerative colitis with short-chain fatty acid enemas. A placebo-controlled trial. **Dig. Dis. Sci.**, v. 41, p. 2254-2259, 1996a.

SCHEPPACH, W.A. Are short chain fatty acids effective in the local treatment of ulcerative colitis. **Gastroenterology**, v. 110, p.1010, 1996b.

SCHREIBER, S. Experimental immunomodulatory therapy of inflammatory bowel disease. **Neth. J. Med.**, v. 53, p. S24-S31, 1998.

SCHREIBER S, NIKOLAUS S, HAMPE J et al. Tumor necrosis factor- α and interleukin 1- β in relapse of Crohn's disease. **Lancet**, v. 353, p. 459-61, 1999.

SCHROBER, H. & CAMPBELL, D.E.S. Absorption, metabolism and excretion of salicylazosulfapyridine in man. **J. Pharmacol. Ther.**, v. 13, p. 539-551, 1972.

SEIBOLD, F. Does conservative therapy of chronic inflammatory bowel diseases still play a role. **Swiss Surg.**, v. 9, n. 3, p. 127-130, 2003.

SENAGORE, A.J.; MACKEIGAN, J.M.; SCHEIDER, M. et al. Short-chain fatty acid enemas: a cost-effective alternative in the treatment of nonspecific proctosigmoiditis. **Dis Colon Rectum**, v. 35, p. 923-927, 1992.

SIMPSON, E.J.; CHAPMAN, M.A.S.; DAWSON, J. et al. In vivo measurement of colonic butyrate metabolism in patients with quiescent ulcerative colitis. **Gut**, vo. 46, n. 1, p. 73-77, 2000.

SPARBERG, M. Ulcerative colitis. **Compr. Ther.**, v. 10, p. 26-35, 1984.

SPILIADIS, C.A.; SPILIADIS, C.A.; LENNARD-JONES, J.E. Ulcerative colitis with relative sparing of the rectum. **Dis Colon Rectum**, v. 30, p. 334, 1987.

STEIN, J.; SCHRODER, O.; MILOVIC, V. et al. Mercaptopropionate inhibits butyrate uptake in isolated apical membrane vesicles of the rat distal colon. **Gastroenterology**, v. 108, p. 673-679, 1995.

STEINHART, A.H.; BRZEZINSKI, A.; BAKER, J.P. Treatment of refractory ulcerative proctosigmoiditis with butyrate enemas. **Am. J. Gastroenterol.**, v. 89, p. 179-183, 1994.

STEINHART, A.H.; HIRUKI, T.; BRZEZINSKI, A. et al. Treatment of left-sided ulcerative colitis with butyrate enemas: a randomized controlled trial. **Gastroenterology**, v. 108, p. A921, 1995.

STEINHART, A.H.; HIRUKI, T.;BRZEZINSKI, A. et al. Treatment of left-sided ulcerative colitis with butyrate enemas: a controlled trial. **Aliment Pharmacol. Ther.**, v. 10, p. 729-736, 1996.

STEINWURZ F. Epidemiologia, aspectos clínicos e evolutivos da doença de Crohn. **Arq Gastroenterol**, v. 35, p. 237-9, 1998.

SVARTZ, N. Salazopyrin, a new sulfanilamide preparation. **Acta Med. Scand.**, v. 110, p. 576-598, 1942.

TAUROG, J.D.; MAIKA, S.D.; SIMMONS, W.A. et al. Susceptibility to inflammatory disease in HLA-B27 transgenic rat lines correlates with the level of B27 expression. **J. Immunol.**, v. 150, p. 4168-4178, 1993.

TEIXEIRA, M.G., HABR-GAMA, A., PINOTTI, H.W. Doença de Crohn. In: In: PINOTTI, H.W. **Tratado de Clínica Cirúrgica do Aparelho Digestivo**. Atheneu. São Paulo. 1994. p.1187-1208.

ULLRICH, I.H. Evaluation of a high-fiber diet in hyperlipidemia: a review. **J. Am. Coll. Nutr.**, v. 6, n. 1, p. 19-25, 1987.

VAN ASSCHE, G.; BAERT, F.; DE REUCK, M. et al. The role of aminosalicylates in the treatment of ulcerative colitis. **Acta Gastroenterol.**, v. 65, n. 4, p. 196-199, 2002.

VASCONCELOS, P.R.L. Hepatic metabolism during sepsis. Oxford: University Oxford, 1987, p. 55, Tese (doctor of philosophy)

VERNIA, P.; CAPRILLI, R.; LATELLA, G. et al. Fecal lactate and ulcerative colitis. **Gastroenterology**, v. 95, p. 1564-1568, 1988.

VIDELA, S.; GARCIA-LAFUENTE, A.; ANTOLIN, M. et al. Antitumor necrosis factor therapy in rat chronic granulomatous colitis: critical dose-timing effects on outcome. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 287, p. 854-859, 1998.

VIDELA, S.; VILASECA, J.; ANTOLÍN, M. et al. Dietary Inulin Improves Distal Colitis Induced by Dextran Sodium Sulfate in the Rat. **Am. Coll. Of Gastroenterology**, v. 96, n. 5, p.1486-1493, 2001.

WALLACE, J.L.; WHITTLE, B.J.R. BOUGHTON-SMITH, N.K. Prostaglandin protection of rat colonic mucosa from damage induced by ethanol. **Dig. Dis. Sci.**, v. 30, p. 866-876, 1985.

WATT, J. & MARCUS, R. Experimental ulcerative disease of the colon in animals. **Gut**, v. 14, p. 506-510, 1973.

WEINSTOCK, R.S.; LEVINE, R.A. The role of dietary fiber in the management of diabetes mellitus. **Nutrition**, v. 4, n. 3, p. 187-193, 1997.

WHITEHEAD, R.H.; YOUNG, G.P.; BHATHAL, P.S. Effects of short chain fatty acids on a new human colon carcinoma cell line (LIM1215). **Gut**, v. 27, p. 1457-1466, 1986.

WILLIAMSON, D.H.; MELLANBY, J.; KREBS H.A.. Enzymic determinations of the D-(-) β -hydroxybutyric acid and acetoacetic acid in blood. **Biochem J**, v. 82, p. 90-96, 1962.

WILLIAMSON, D.H.; LOPES-VIEIRA, O.; WALKER, B. Concentrations of free gluconeogenic amino acid in livers of rats subjected to various metabolic stresses. **Bioch. J.**, v. 104, p. 497-502, 1967.

WOLLENBERGER *apud* NEWSHOLME, E.A.; LEECH, A.R. Regulation of glucose and fatty acid oxidation in relation to energy demand in muscle. In: **Biochemistry for the medical sciences**. New York. John Wiley and sons, 1960, cap. 7, p. 332-333.

YAMADA, T.; MARSHALL, S.; PECIAN, R.D.; GRISHAN, M.B. A Comparative Analysis of Two Models of Colitis in Rats. **Gastroenterology**, v. 102, p. 1524-1534, 1992.

YAMADA, T.; DEITCH, E.; SPECIAN, R.D. et al. Mechanisms of acute and chronic intestinal inflammation induced by indomethacin. **Inflammation**, v. 17, p. 641-662, 1993.

APÊNDICE B - TABELAS

Tabela 1: Evolução do peso (g) dos animais entre o início e término do experimento em ratos que receberam água, fibra solúvel ou FOS, submetidos à aplicação transanal de água e avaliados no 7º e 14º dias após aplicação

	7º dia sem colite			14º dia sem colite		
	Água	Fibra	FOS	Água	Fibra	FOS
	35	32	10	47	-19	27
	29	41	18	17	-19	-43
	23	28	20	20	2	24
	38	32	16	32	12	-61
	32	40	38	30	-21	-55
	15	20	13	-68	38	26
	5	38	3	41	-128	52
	28	18	30	22	27	48
Média	25,62	31,12	18,5	17,62	-13,5	2,25
	±10,9	8,7	11,1	±36,1	±51,3	±47,1

Análise de variância _ **Kruskal_Wallis**

$H(7)=5,21$

Água = Fibra = FOS
para ($p > 0,05$)

$H(14)=2,13$

Água = Fibra = FOS
para ($p > 0,05$)

Tabela 2: Relação peso do colo (mg) / tamanho do colo (cm) em ratos que receberam água, fibra solúvel ou FOS, submetidos à aplicação transanal de água e avaliados no 7º e 14º dias após aplicação

	7º dia sem colite			14º dia sem colite		
	Água	Fibra	FOS	Água	Fibra	FOS
	74,6	149,5	64,8	121,2	126,7	99,3
	72,8	123,5	111,2	116,8	81,2	129,8
	73,3	110,4	67,5	133,8	144	149,6
	80,7	97,3	69,5	145,1	106	165,2
	82,7	131,8	171,5	150,2	90,4	113,8
	78,2	60,3	70,8	135,6	140,5	141,8
	140,8	130	168,7	106,7	69,1	131,1
	89,7	76,1	104,6	151,4	96,3	146,7
Média	86,6	109,86	103,57	132,6	106,77	134,66
	±22,6	±30,2	±44,6	±16,4	±27,7	±20,9

Análise de variância _ **Kruskal_Wallis**

$H(7)=1,38$

Água = Fibra = FOS
para ($p > 0,05$)

$H(14)=5,70$

Água = Fibra = FOS
para ($p > 0,05$)

Tabela 3: Escores Macroscópicos para avaliação de achados inflamatórios em segmento colorretal de ratos que receberam água, fibra solúvel ou FOS, submetidos à aplicação transanal de água e avaliados no 7º e 14º dias após aplicação.

	7º dia sem colite				14º dia sem colite		
	Água	Fibra	FOS		Água	Fibra	FOS
	0	0	0		0	0	0
	0	0	0		0	0	0
	0	0	0		0	0	0
	0	0	0		0	0	0
	0	0	0		0	0	0
	0	0	0		0	0	0
	0	0	0		0	0	0
	0	0	0		0	0	0
Média	0 ±0	0 ±0	0 ±0		0 ±0	0 ±0	0 ±0

Análise de variância _ **Kruskal_Wallis**

$$H(7) = 0$$

$$H(14) = 0$$

Água = Fibra = FOS
para (p > 0,05)

Água = Fibra = FOS
para (p > 0,05)

Tabela 4: Escores Microscópico para análise de achados inflamatórios em cortes histológicos corados por HE de segmento colorretal de ratos que receberam água, fibra ou FOS, submetidos à aplicação transanal de água, avaliados no 7º e 14º dias após aplicação.

	7º dia com colite			14º dia com colite		
	Água	Fibra	FOS	Água	Fibra	FOS
	0	0	1	0	0	0
	0	0	1	0	0	0
	0	0	1	0	0	0
	0	0	0	0	1	0
	0	0	4	0	0	0
	1	0	0	0	0	0
	1	0	2	0	0	0
	1	0	0	0	1	1
Média	0,37	0,0	1,12	0,0	0,25	0,12
	±0,5	±0	±1,3	±0	±0,4	±0,3

Análise de variância _ **Kruskal_Wallis**

$H(7)=0,72$

$H(14)=1,38$

Água = Fibra = FOS
para ($p > 0,05$)

Água = Fibra = FOS
para ($p > 0,05$)

Tabela 5: Diferença de peso (g) dos animais entre o início e término do experimento em ratos que receberam água, fibra solúvel ou FOS, submetidos à indução da colite por TNBS, avaliados no 7º e 14º dia após indução.

7º dia com colite			14º dia com colite		
Água	Fibra	FOS	Água	Fibra	FOS
-10	-11	-70	17	48	28
-22	-75	-55	73	-40	0
-45	-64	-5	0	39	-16
-80	-47	-25	22	-11	19
-99	-66	-77	-19	9	0
-19	-55	-72	46	39	22
-69	-63	-50	0	62	-20
-25	-49	-60	16	38	-69
Média	-46,12	-53,75	19,37	23,0	-4,50
	±32,8	±19,6	±28,8	34,2	±31,3

Análise de variância _ **Kruskal_Wallis**

$H(7)=0,34$

$H(14)=3,10$

Água = Fibra = FOS
para (p > 0,05)

Água = Fibra = FOS
para (p > 0,05)

Tabela 6: Escores Macroscópicos para avaliação de achados inflamatórios em segmento colorretal de ratos que receberam água, fibra solúvel ou FOS, submetidos à indução da colite por TNBS, avaliados no 7º e 14º dias após indução.

	7º dia com colite			14º dia com colite		
	Água	Fibra	FOS	Água	Fibra	FOS
	2	2	9	0	0	6
	7	8	7	0	7	7
	10	8	2	0	2	2
	7	8	2	4	6	2
	8	10	10	0	2	2
	6	8	6	7	0	2
	10	7	7	3	2	0
	8	0	7	2	2	0
Média	7,25	6,37	6,25	2	2,62	2,62
	±2,5	±3,5	±2,9	±2,6	±2,5	2,5

Análise de variância _ **Kruskal_Wallis**

$H(7)=0,62$

$H(14)=0,3$

Água = Fibra = FOS
para (p > 0,05)

Água = Fibra = FOS
para (p > 0,05)

Tabela 7: Escores Microscópico para análise de achados inflamatórios em cortes histológicos corados por HE de fragmento cólico provenientes de ratos que receberam água, fibra ou FOS, submetidos à indução da colite por TNBS, avaliados no 7º e 14º dias após indução.

	7º dia com colite			14º dia com colite		
	Água	Fibra	FOS	Água	Fibra	FOS
	2	8	11	3	0	3
	11	8	11	2	9	10
	11	11	9	9	2	4
	11	11	1	3	10	7
	11	11	11	3	10	7
	11	11	11	11	1	7
	11	11	11	11	3	10
	11	0	11	3	5	6
Média	9,87	8,87	9,5	5,62	5	5,75
	±3,2	3,8	±3,5	±3,9	±5,0	6,75

Análise de variância _ **Kruskal_Wallis**

$H(7)=0,72$

$H(14)=1,38$

Água = Fibra = FOS
para ($p > 0,05$)

Água = Fibra = FOS
para ($p > 0,05$)

Tabela 8: Concentrações dos corpos cetônicos ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico *in vivo* de ratos que receberam água, fibra solúvel ou FOS,

submetidos à aplicação transanal de água e avaliados no 7º e 14º dias após aplicação

7º dia sem colite			14º dia sem colite		
Água	Fibra	FOS	Água	Fibra	FOS
0,135	0,16	0,111	0,174	0,174	0,033
0,092	0,167	0,102	0,095	0,164	0,089
0,141	0,118	0,135	0,086	0,102	0,082
0,066	0,188	0,126	0,18	0,104	0,131
0,131	0,152	0,119	0,046	0,163	0,112
0,102	0,083	0,067	0,079	0,162	0,184
0,184	0,115	0,0801	0,253	0,115	0,214
0,161	0,118	0,055	0,151	0,268	0,122
Média			Média		
0,13	0,14	0,1	0,13	0,16	0,12
±0,04	±0,03	0,25	±0,07	±0,05	±0,06

Análise de variância _ **Kruskal_Wallis**

$H(7) = 1,29$

$H(14) = 1,23$

Água = Fibra = FOS

Água = Fibra = FOS

para ($p > 0,05$)

para ($p > 0,05$)

Tabela 9: Concentrações do 3-hidroxibutirato ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico *in vivo* provenientes de ratos que receberam água, fibra solúvel ou

FOS, submetidos à aplicação transanal de água e avaliados no 7º e 14º dias após aplicação.

7º dia sem colite			14º dia sem colite		
Água	Fibra	FOS	Água	Fibra	FOS
0,08	0,152	0,047	0,146	0,109	0,009
0,35	0,107	0,043	0,071	0,108	0,066
0,091	0,076	0,007	0,84	0,029	0,032
0,013	0,132	0,074	0,154	0,06	0,084
0,074	0,101	0,063	0,026	0,096	0,084
0,05	0,027	0,014	0,55	0,156	0,151
0,148	0,049	0,022	0,186	0,52	0,201
0,107	0,057	0,025	0,98	0,255	0,97
Média	0,11	0,08	0,37	0,17	0,2
	±0,10	±0,04	±0,37	±0,15	±0,32

Análise de variância _ **Kruskal_Wallis**

$H(7)=4,89$

$H(14)=1,86$

Água = Fibra = FOS
para ($p > 0,05$)

Água = Fibra = FOS
para ($p > 0,05$)

Tabela 10: Concentrações do lactato ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico *in vivo* de ratos que receberam água, fibra solúvel ou FOS, submetidos à aplicação transanal de água e avaliados no 7º e 14º dias após aplicação.

7º dia sem colite			14º dia sem colite		
Água	Fibra	FOS	Água	Fibra	FOS

	2,147	2,572	1,435	0,798	1,015	0,856
	1,461	2,784	3,97	0,649	1,16	0,608
	1,058	1,719	0,961	1,542	0,889	0,754
	1,915	0,916	4,726	1,064	0,938	1,38
	0,701	2,43	0,669	0,833	1,098	1,325
	2,015	0,751	3,891	0,961	0,925	0,145
	2,122	1,56	1,739	1,147	0,993	1,577
	1,374	1,627	4,215	0,739	0,645	0,661
Média	1,6	1,79	2,7	0,97	0,96	0,91
	±0,53	±0,75	±1,65	±0,28	±0,15	±0,48

Análise de variância _ **Kruskal_Wallis**

$H(7)=1,23$

$H(14)=0,32$

Água = Fibra = FOS
para ($p > 0,05$)

Água = Fibra = FOS
para ($p > 0,05$)

Tabela 11: Relação das concentrações [acetoacetato]/[3-hidroxibutirato] ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico *in vivo* de ratos submetidos à aplicação transanal de água que receberam água, fibra solúvel ou FOS avaliados no 7º e 14º dias após aplicação.

7º dia sem colite			14º dia sem colite		
Água	Fibra	FOS	Água	Fibra	FOS

	0,675	0,046	1,361	0,191	0,596	2,555
	1,628	0,56	1,372	0,393	0,509	0,348
	0,538	0,552	0,914	0,011	2,482	1,562
	4	0,424	0,689	0,149	0,733	0,547
	0,77	0,504	0,873	0,769	0,687	0,333
	1,04	2,074	3,785	0,418	0,378	0,211
	0,243	1,346	2,59	0,354	1,211	0,064
	0,495	1,07	1,16	0,54	0,05	0,257
Média	1,17	0,82	1,59	0,35	0,83	0,73
	±1,22	±0,64	±1,06	±0,24	±0,74	±0,87

Análise de variância _ **Kruskal_Wallis**

$H(7)=4,29$

$H(14)=3,03$

Água = Fibra = FOS
para ($p > 0,05$)

Água = Fibra = FOS
para ($p > 0,05$)

Tabela 12: Relação das concentrações [piruvato]/[lactato] ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico *in vivo* de ratos submetidos à aplicação transanal de água que receberam água, fibra solúvel e FOS avaliados no 7º dias após aplicação

7º dia sem colite			14º dia sem colite		
Água	Fibra	FOS	Água	Fibra	FOS
0,064	0,118	0,081	0,204	0,122	0,161
0,086	0,053	0,038	0,203	0,123	0,18
0,131	0,09*0	0,116	0,098	0,155	0,198
0,069	0,146	0,029	0,157	0,14	0,097
0,192	0,06	0,213	0,186	0,119	0,107
0,066	0,191	0,036	0,156	0,058	0,944
0,073	0,089	0,081	0,129	0,156	0,024
0,116	0,086	0,033	0,201	0,015	0,037
Média	0,10	0,11	0,17	0,11	0,22
	±0,04	±0,04	±0,04	±0,05	±0,30

Análise de variância _ **Kruskal_Wallis**

$H(7)=25,55$

$H(14)=4,71$

Água = Fibra = FOS
para ($p > 0,05$)

Água = Fibra = FOS
para ($p > 0,05$)

Tabela 13: Concentrações dos corpos cetônicos ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico *in vivo* de ratos submetidos à indução da colite por TNBS que receberam água, fibra ou FOS avaliados no 7º e 14º dias após indução

	7º dia com colite			14º dia com colite		
	Água	Fibra	FOS	Água	Fibra	FOS
	0,144	0,28	0,353	0,354	0,071	0,138
	0,277	0,629	0,339	0,15	0,132	0,168
	0,174	0,125	0,052	0,098	0,135	0,146
	0,101	0,611	0,261	0,076	0,196	0,154
	0,259	0,19	0,29	0,201	0,152	0,137
	0,25	0,181	0,203	0,226	0,112	0,14
	0,126	0,307	0,105	0,075	0,145	0,057
	0,175	0,259	0,36	0,235	0,145	0,428
Média	0,18	0,32	0,25	0,18	0,14	0,17
	$\pm 0,06$	$\pm 0,19$	$\pm 0,12$	$\pm 0,09$	$\pm 0,03$	$\pm 0,11$

Análise de variância _ **Kruskal_Wallis**

$H(7)=3,58$

$H(14)=1,18$

Água = Fibra = FOS
para ($p > 0,05$)

Água = Fibra = FOS
para ($p > 0,05$)

Tabela 14: Concentrações do 3-hidroxibutirato ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico *in vivo* de ratos submetidos à indução da colite por TNBS que receberam água, fibra ou FOS avaliados no 7º e 14º dias após indução

7º dia com colite				14º dia com colite			
	Água	Fibra	FOS		Água	Fibra	FOS
	0,12	0,199	0,314		0,225	0,026	0,101
	0,13	0,615	0,309		0,112	0,111	0,129
	0,167	0,118	0,02		0,046	0,103	0,096
	0,05	0,538	0,213		0,036	0,169	0,136
	0,191	0,148	0,181		0,179	0,12	0,085
	0,139	0,167	0,163		0,98	0,078	0,114
	0,097	0,242	0,093		0,053	0,096	0,056
	0,146	0,188	0,349		0,206	0,121	0,034
Média	0,13	0,29	0,21		0,23	0,1	0,09
	$\pm 0,04$	$\pm 0,19$	$\pm 0,11$		$\pm 0,31$	$\pm 0,04$	$\pm 0,03$

Análise de variância _ **Kruskal_Wallis**

$H(7)=5,03$

$H(14)=1,02$

Água = Fibra = FOS
para (p > 0,05)

Água = Fibra = FOS
para (p > 0,05)

Tabela 15: Concentrações do acetoacetato ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico *in vivo* provenientes de ratos submetidos à indução da colite por TNBS que receberam água, fibra ou FOS avaliados no 7º e 14º dia após indução

	7º dia com colite			14º dia com colite		
	Água	Fibra	FOS	Água	Fibra	FOS
	0,023	0,08	0,039	0,129	0,045	0,036
	0,097	0,014	0,029	0,037	0,021	0,039
	0,012	0,006	0,032	0,052	0,031	0,049
	0,051	0,073	0,048	0,037	0,026	0,017
	0,067	0,042	0,109	0,021	0,032	0,052
	0,11	0,013	0,039	0,028	0,034	0,026
	0,028	0,065	0,012	0,022	0,049	0,001
	0,029	0,07	0,011	0,029	0,023	0,08
Média	0,05	0,05	0,04	0,04	0,03	0,04
	$\pm 0,04$	$\pm 0,03$	$\pm 0,03$	$\pm 0,04$	$\pm 0,001$	$\pm 0,02$

Análise de variância _ **Kruskal_Wallis**

$H(7)=0,48$

$H(14)=0,34$

Água = Fibra = FOS

Água = Fibra = FOS

para ($p > 0,05$)

para ($p > 0,05$)

Tabela 16: Concentrações do lactato ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico *in vivo* de ratos submetidos à indução da colite por TNBS que receberam água, fibra ou FOS, avaliados no 7º e 14º dias após indução

	7º dia com colite				14º dia com colite		
	Água	Fibra	FOS		Água	Fibra	FOS
	1,698	0,481	1,238		1,076	1,145	1,079
	2,732	1,191	1,498		0,837	1,174	4,653
	0,768	0,065	1,815		1,7	0,996	0,985
	0,107	1,904	2,681		1,237	1,832	1,358
	2,51	0,951	1,1		0,751	1,104	0,921
	1,803	4,67	1,217		3,006	1,204	0,929
	0,87	1,57	0,52		0,775	0,715	0,112
	3,842	0,469	3,234		0,65	1,126	1,732
Média	1,8	1,41	1,66		1,25	1,16	1,47
	$\pm 1,21$	$\pm 1,45$	$\pm 0,89$		$\pm 0,78$	$\pm 0,31$	$\pm 1,36$

Análise de variância _ **Kruskal_Wallis**

$H(7)=1,21$

$H(14)=0,56$

Água = Fibra = FOS
para ($p > 0,05$)

Água = Fibra = FOS
para ($p > 0,05$)

Tabela 17: Relação das concentrações [acetoacetato]/[3-hidroxiacetato] ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico *in vivo* de ratos submetidos à indução da colite por TNBS que receberam água, fibra ou FOS, avaliados no 7º e 14º dias após indução.

	7º dia com colite			14º dia com colite		
	Água	Fibra	FOS	Água	Fibra	FOS
	0,191	0,402	0,124	0,573	1,73	0,356
	0,746	0,022	0,093	0,33	0,189	0,302
	0,071	0,05	1,6	1,13	0,3	0,51
	1,02	0,135	0,225	1,027	0,153	0,125
	0,35	0,283	0,605	0,117	0,266	0,611
	0,791	0,077	0,239	0,141	0,435	0,228
	0,288	0,268	0,129	9,415	0,51	0,017
	0,198	0,372	0,031	0,14	0,19	2,352
Média	0,46	0,2	0,38	1,61	0,47	0,56
	$\pm 0,35$	$\pm 0,15$	$\pm 0,52$	$\pm 3,18$	$\pm 0,52$	$\pm 0,75$

Análise de variância _ **Kruskal_Wallis**

$H(7)=2,24$

$H(14)=0,19$ (não significativo)

Água = Fibra = FOS
para ($p > 0,05$)

Água = Fibra = FOS
para ($p > 0,05$)

Tabela 18: Relação das concentrações [piruvato]/[lactato] ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico *in vivo* de ratos submetidos à indução da colite por TNBS que receberam água, fibra ou FOS, avaliados no 7º e 14º dias após indução

7º dia com colite			14º dias com colite		
Água	Fibra	FOS	Água	Fibra	FOS
0	0,049	0,028	0,013	0,14	0,122
0,007	0	0,019	0,164	0,138	0,043
0,084	1,661	0,004	0,128	0,144	0,155
0,523	0,057	0,017	0,11	0,102	0,117
0,015	0,015	0,018	0,154	0,145	0,127
0,077	0,014	0,042	0,039	0,135	0,19
0,027	0,056	0,18	0,211	0,22	1,044
0,03	0,249	0,008	0,224	0,163	0,112
Média	0,1	0,26	0,13	0,15	0,24
	$\pm 0,17$	$\pm 0,26$	$\pm 0,07$	$\pm 0,03$	$\pm 0,32$

Análise de variância _ **Kruskal_Wallis**

$H(7)=0,79$

Água = Fibra = FOS
para ($p > 0,05$)

$H(14)0,31$

Água = Fibra = FOS
para ($p > 0,05$)

Tabela 19: Concentrações de 3-hidroxibutirato ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico *in vivo* de ratos que receberam água e submetidos à aplicação transanal de água ou indução da colite por TNBS avaliados no 7º e 14º dias após indução.

7º dia			14º dia	
Água Sem colite	Água Com colite		Água Sem colite	Água Com colite
0,08	0,12		0,146	0,225
0,35	0,13		0,071	0,112
0,091	0,167		0,84	0,046
0,013	0,05		0,154	0,036
0,074	0,191		0,026	0,179
0,05	0,139		0,55	0,98
0,148	0,097		0,186	0,053
0,107	0,146		0,98	0,206
Média	0,11	0,13	0,37	0,23

Por **Wilcoxon** com 5% de probabilidade

Substância	7º dia	14º dia
Água	com colite = sem colite ($p > 0,05$)	Com colite = sem colite ($p > 0,05$)

Tabela 20: Concentrações de acetoacetato ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico *in vivo* de ratos que receberam água e submetidos à aplicação transanal de água e indução da colite por TNBS avaliados no 7º e 14º dias após indução.

7º dia			14º dia	
Água Sem colite	Água Com colite		Água Sem colite	Água Com colite
0,054	0,023		0,028	0,129
0,057	0,097		0,023	0,037
0,049	0,012		0,001	0,052
0,052	0,051		0,023	0,037
0,057	0,067		0,02	0,021
0,052	0,11		0,023	0,028
0,036	0,028		0,066	0,022
0,053	0,029		0,053	0,029
Média	0,05	0,05	0,03	0,04

Por **Wilcoxon** com 5% de probabilidade

Substância	7º dia		14º dia
Água	Com colite colite ($p > 0,05$)	=	sem Com colite = sem colite ($p > 0,05$)

Tabela 21: Concentrações de lactato ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico *in vivo* de ratos que receberam água e submetidos à aplicação transanal de água ou indução da colite por TNBS avaliados no 7º e 14º dias após indução.

7º dia		14º dia	
Água Sem colite	Água Com colite	Água Sem colite	Água Com colite
2,147	1,698	0,798	1,076
1,461	2,732	0,649	0,837
1,058	0,768	1,542	1,7
1,915	0,107	1,064	1,237
0,701	2,51	0,833	0,751
2,015	1,803	0,961	3,006
2,122	0,87	1,147	0,775
1,374	3,842	0,739	0,65
Média	1,6	0,97	1,25

Por **Wilcoxon** com 5% de probabilidade

Substância	7º dia	14º dia
Água	Com colite = sem colite ($p > 0,05$)	Com colite = sem colite ($p > 0,05$)

Tabela 22: Concentrações de ATP ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico *in vivo* de ratos que receberam água e submetidos à aplicação transanal ou

indução da colite por TNBS avaliados no 7º e 14º dias após indução.

7º dia		14º dia	
Água Sem colite	Água Com colite	Água Sem colite	Água Com colite
0,577	0,645	0,667	0,585
0,534	0,517	0,623	0,578
0,539	0,513	0,505	0,562
0,529	0,593	0,549	0,461
0,498	0,587	0,513	0,457
0,982	0,537	0,505	0,461
0,474	0,51	0,569	0,554
0,317	0,541	0,5	0,517
Média	0,56	0,55	0,52

Por **Wilcoxon** com 5% de probabilidade

Substância	7º dia	14º dia
Água	com colite = sem colite (p > 0,05)	Com colite = sem colite (p > 0,05)

APÊNDICE C - FÍGURAS

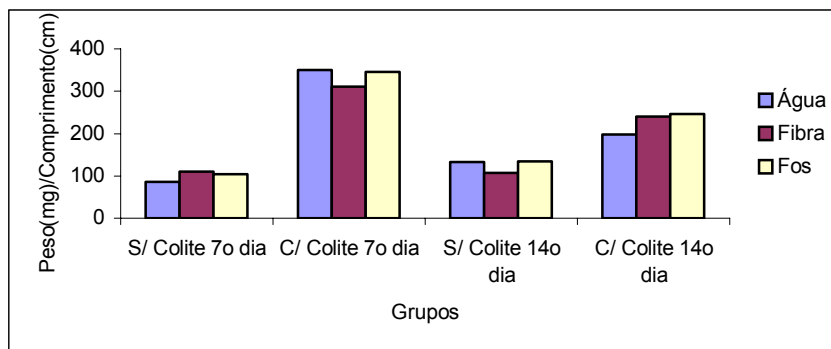


Figura 1: Média da relação peso do colo (g)/ comprimento do colo (cm) nos grupos sem colite e com colite, no 7º e 14º dias de avaliação

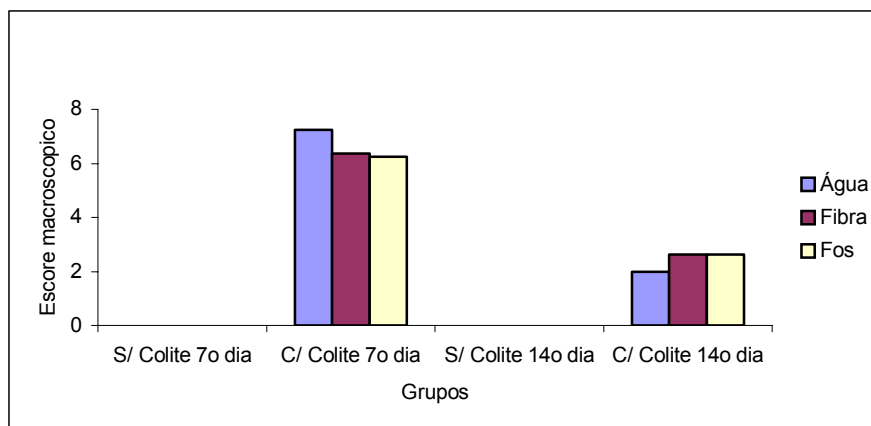


Figura 2: Média dos escores macroscópico nos grupos sem colite e com colite, no 7º e 14º dias de avaliação

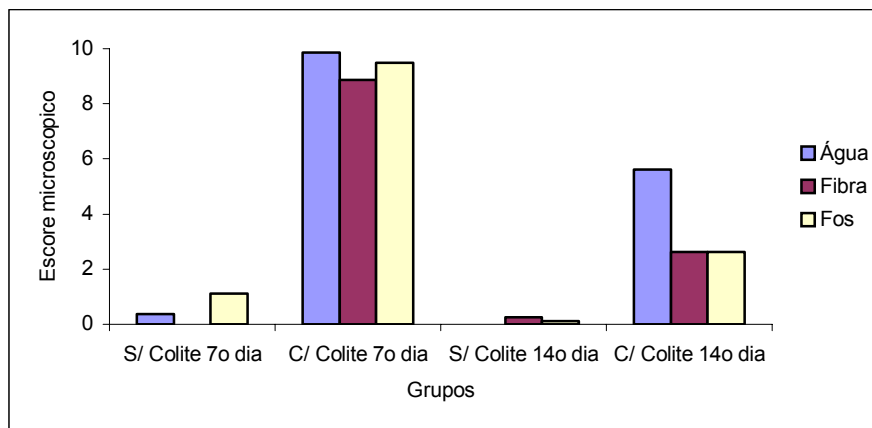


Figura 3: Média dos escores microscópicos nos grupos sem colite e com colite, no 7º e 14º dias de avaliação

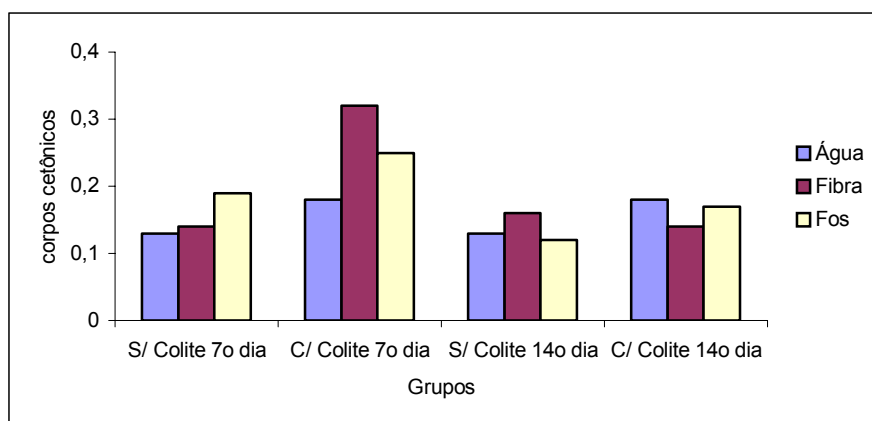


Figura 4: Média das concentrações dos corpos cetônicos ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico *in vivo*, nos grupos sem colite e com colite, no 7º e 14º dias de avaliação

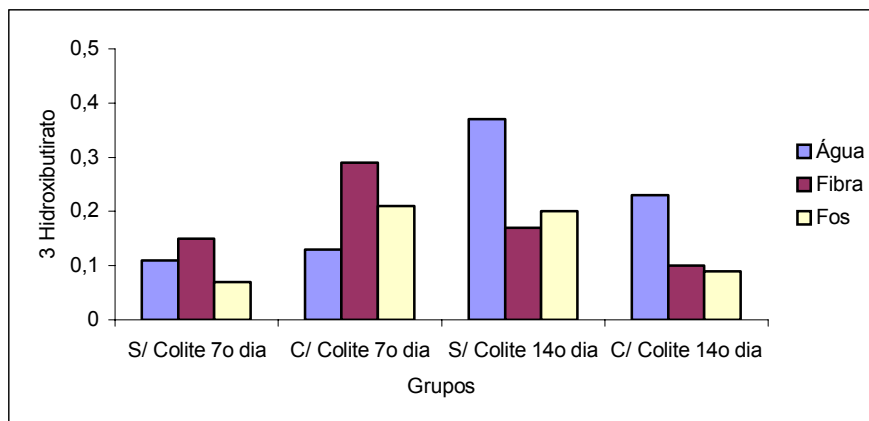


Figura 5: Média das concentrações de 3-Hidroxibutirato ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico *in vivo*, nos grupos sem colite e com colite, no 7º e 14º dias de avaliação

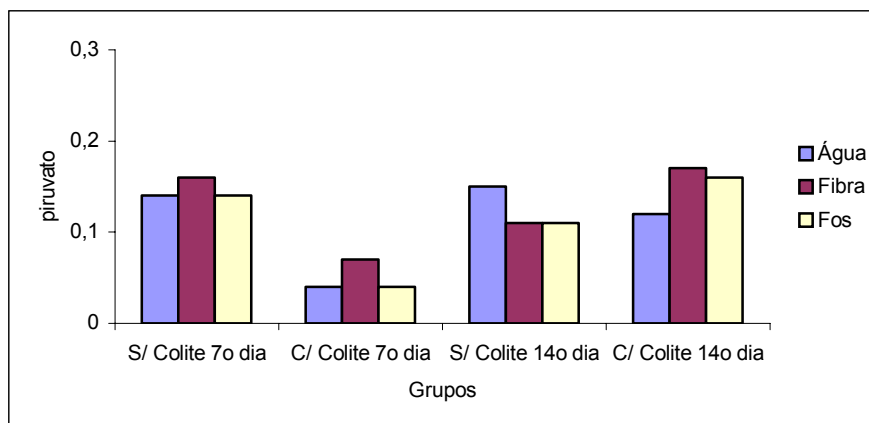


Figura 6: Média das concentrações de piruvato ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico *in vivo*, nos grupos sem colite e com colite, no 7º e 14º dias de avaliação

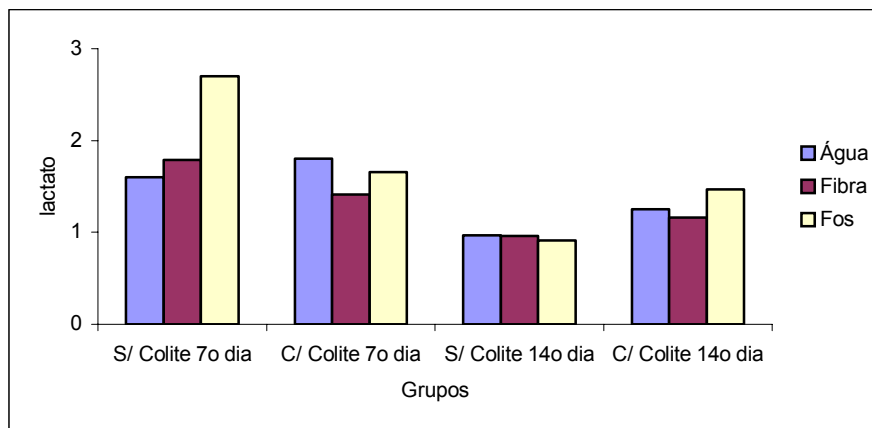


Figura 7: Média das concentrações de lactato ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico *in vivo*, nos grupos sem colite e com colite, no 7º e 14º dias de avaliação

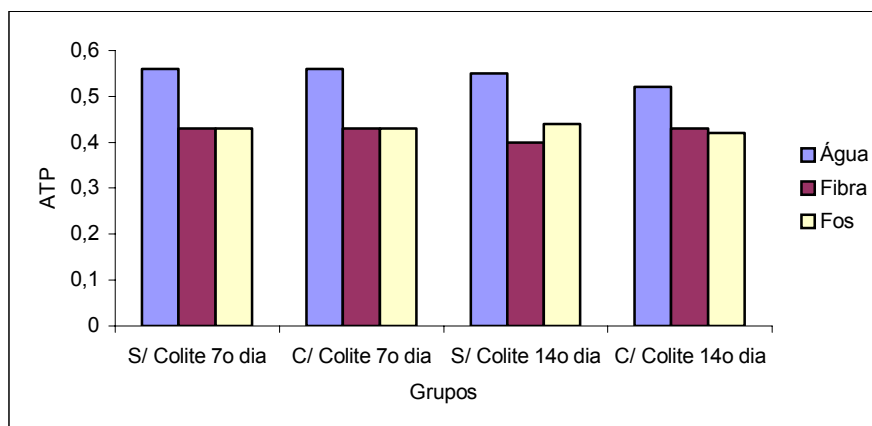


Figura 8: Média das concentrações de ATP ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico *in vivo*, nos grupos sem colite e com colite, no 7º e 14º dias de avaliação

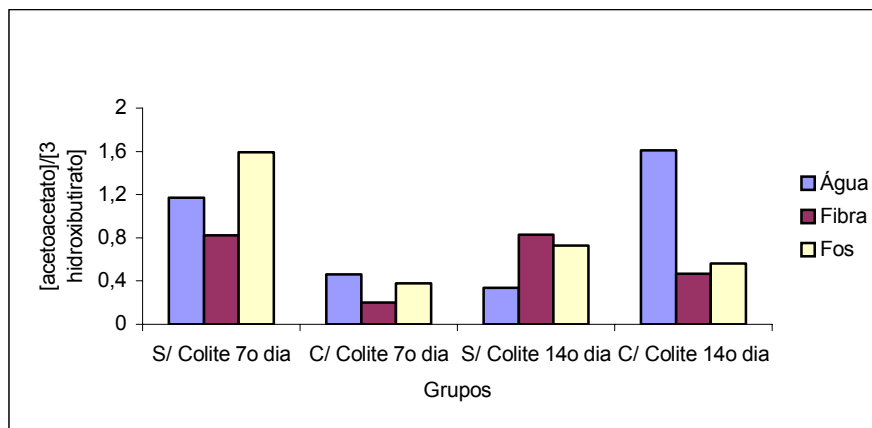


Figura 9: Média das concentrações da relação [acetoacetato]/[3-hidroxiacetato] ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico *in vivo*, nos grupos sem colite e com colite, no 7º e 14º dias de avaliação

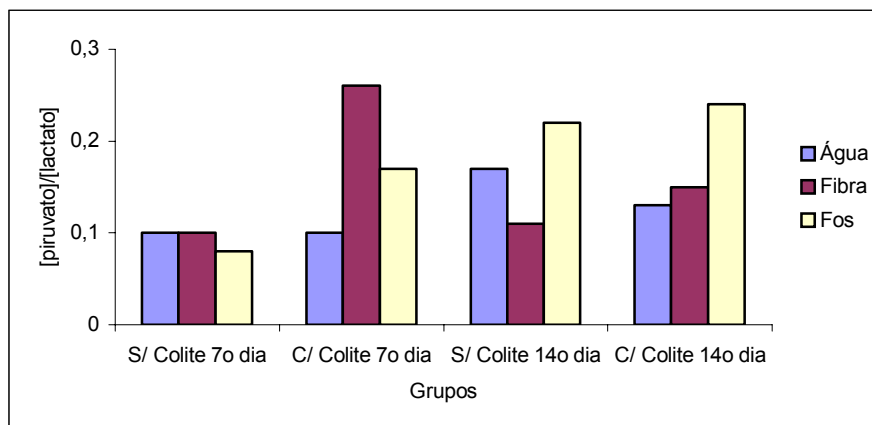


Figura 10: Média das concentrações da relação [piruvato]/[lactato] ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no tecido cólico *in vivo*, nos grupos sem colite e com colite, no 7º e 14º dias de avaliação