



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ - UFC
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA CLÍNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS

ANA KÁTIA MOURA LOPES

**INTEGRIDADE DA MUCOSA RETAL E INFLAMAÇÃO EM PACIENTES COM
RETocolite Ulcerativa Idiopática em Atividade**

FORTALEZA/ CEARÁ

2022

ANA KÁTIA MOURA LOPES

**INTEGRIDADE DA MUCOSA RETAL E INFLAMAÇÃO EM PACIENTES COM
RETocolite Ulcerativa Idiopática em Atividade**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas do Departamento de Medicina Clínica da Universidade Federal do Ceará (UFC), como requisito para obtenção do título de mestre em Ciências Médicas.

Orientador: Prof. Dr. Marcellus Henrique
Loiola Pontes de Souza

FORTALEZA/ CEARÁ

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- L85i Lopes, Ana Kátia.
 Integridade da mucosa retal e inflamação em pacientes com retocolite ulcerativa idiopática em atividade
 / Ana Kátia Lopes. – 2023.
 88 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-
 Graduação em Ciências Médicas, Fortaleza, 2023.
 Orientação: Prof. Dr. Marcellus Henrique Loiola Ponte de Souza.
1. Integridade da Mucosa. 2. Inflamação. 3. Colite Ulcerativa. I. Título.

CDD 610

ANA KÁTIA MOURA LOPES

**INTEGRIDADE DA MUCOSA RETAL E INFLAMAÇÃO EM PACIENTES COM
RETocolite Ulcerativa Idiopática em Atividade**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas do Departamento de Medicina Clínica da Universidade Federal do Ceará (UFC), como requisito para obtenção do título de mestre em Ciências Médicas.

Orientador: Prof. Dr. Marcellus Henrique Loiola Pontes de Souza

Aprovada em: __/__/__

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Marcellus Henrique Loiola Ponte de Souza (Orientador)

Universidade Federal do Ceará

Prof. Dr. José Telmo Valença Júnior

Universidade Federal do Ceará

Prof. Dr. Carlos Eduardo da Silva Monteiro

Universidade Federal do Rio de Janeiro

A Deus,
Ao meu esposo, João, pela sua paciência,
companheirismo, dedicação e ajuda.
A minha filha, Mariana
Aos meus pais, Assis e Dalva que sempre me
educaram no caminho de Deus.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Marcellus Henrique Loiola Ponte de Souza, por toda a confiança em mim depositada, e por sua excelente orientação, apoio, paciência, sabedoria e amizade.

À prof. Dr.^a Suliana de Paula, pela amizade, orientação, dedicação, disponibilidade e seus ensinamentos.

Ao Prof. Dr. Renan Oliveira Silva, por sua ajuda, motivação e ensinamentos.

Ao Prof. Luciano Monteiro Franco, por sua paciência e ajuda nas análises histológicas.

Ao meu amigo Ramon, por sua ajuda e disponibilidade.

Ao meu amigo e companheiro de laboratório, Humberto Filho, por seus ensinamentos e sua grande ajuda nos experimentos e na coleta das biópsias.

Aos meus amigos e companheiros de laboratório: Tiago, Carlos, Kerolayne, Álvaro, Klayre, João e Larissa.

À minha grande Adriana Cesar da Silveira, que sempre me incentivou, me ajudou e esteve comigo durante todo o processo.

Aos funcionários do Serviço de Endoscopia Digestiva do CH, que sempre me ajudaram e me apoiaram durante a coleta das amostras.

As médicas do ambulatório de doenças inflamatórias intestinais Profa. Dra. Lúcia libanês, Isabele e Ranna.

A equipe do ambulatório de doenças inflamatórias intestinais.

Aos funcionários do Departamento de Patologia e Medicina Legal da UFC.

Aos pacientes do ambulatório de gastroenterologia em doenças inflamatórias do CH-UFC por terem contribuído com a minha pesquisa.

À UFC e à Pós-Graduação em Ciências Médicas, por terem me dado a chance e todos os instrumentos que me possibilitaram chegar ao final desse ciclo.

RESUMO

A disfunção da barreira da mucosa é reconhecida como um fator patogênico na colite ulcerativa (RCU), e desempenha um papel proeminente no início e na progressão da doença. Na prática clínica, a inflamação colônica associada à RCU pode ser medida por endoscopia e histopatologia. O objetivo deste estudo foi avaliar se existe relação entre o comprometimento da barreira epitelial retal e o dano inflamatório em pacientes com RCU. Avaliamos 10 pacientes com RCU ativa (escore endoscópico de Mayo >1) e 14 controles (submetidos à colonoscopia para rastreamento do câncer de cólon). Durante a colonoscopia, a inflamação macroscópica foi avaliada com base no escore endoscópico de Mayo, e amostras de biópsias do reto foram removidas para medir a inflamação microscópica (escores de Geboes e Robarts) e a função de barreira epitelial (resistência elétrica transepitelial). O grupo colite apresentou mais danos endoscópicos e inflamatórios microscópicos em comparação com o grupo controle. A resistência elétrica transepitelial no reto foi significativamente menor ($p < 0,05$) nos pacientes com RCU ativa, quando comparado ao grupo controle. Existe uma correlação significativamente negativa ($p < 0,05$) entre inflamação endoscópica e dano microscópico, com base nos escores de Geboes com resistência elétrica transepitelial no reto. Concluímos que existem correlações negativas entre integridade da mucosa e dano inflamatório em pacientes com RCU; contudo, mais estudos são necessários para avaliar se a cicatrização do tecido da mucosa induzida pelo tratamento pode reverter o dano a barreira epitelial, fornecendo um potencial alvo terapêutico para pacientes com RCU.

Palavras-chave: integridade da mucosa; inflamação; colite ulcerativa.

ABSTRACT

Mucosal barrier dysfunction is recognized as a pathogenic factor in ulcerative colitis (UC), and it plays a prominent role in the initiation and progression of the disease. In clinical practices, colonic inflammation associated with UC can be measure by endoscopy and histopathology. The aim of the present study was to assess whether there is a relationship between the impairment of the rectum epithelial barrier and inflammatory damage in patients with UC. We evaluated 10 patients with active UC (Mayo endoscopic score > 1) and 14 control subjects (submitted colonoscopy for colon cancer screening). During the colonoscopy, macroscopic inflammation was evaluated based on the Mayo endoscopic score, and biopsy samples of the rectum were removed to measure microscopic inflammation (Geboes and Robarts scores) and epithelial barrier function (transepithelial electrical resistance). We evaluated 10 patients with active UC (Mayo endoscopic score > 1) and 14 control subjects (submitted colonoscopy for colon cancer screening). During the colonoscopy, macroscopic inflammation was evaluated based on the Mayo endoscopic score, and biopsy samples of the rectum were removed to measure microscopic inflammation (Geboes and Robarts scores) and epithelial barrier function (transepithelial electrical resistance). The colitis group had more endoscopy and microscopic inflammatory damage as compared with the control group. The transepithelial electrical resistance in the rectum was significantly lower ($p < 0.05$) in patients with active UC when compared with the control group. There is a significantly negative ($p < 0.05$) correlation between endoscopic inflammation and microscopic damage based on the Geboes scores with transepithelial electrical resistance in the rectum. There are negative correlations between mucosal integrity and inflammatory damage in patients with UC. Further studies are required to assess whether treatment-induced mucosal tissue healing could reverse the damage to the epithelial barrier, providing a potential new therapeutic target for patients with UC.

Keywords: Mucosal integrity; Inflammation; Ulcerative colitis.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Escore endoscópico de Mayo.....	23
Tabela 2 -	Escore de Geboes Simplificado	30
Tabela 3	Escore de Robarts	31
Tabela 4 -	Características gerais dos pacientes incluídos	33
Tabela 5 -	Comparação das anormalidades na análise de Geboes entre os grupos controle e retocolite ulcerativa.	36

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Patogênese da RCU.....	19
Figura 2 -	Comparação dos escores de Mayo entre o grupo controle e pacientes com retocolite ulcerativa.....	34
Figura 3 -	Análises histológicas para escore de Geboes e Robarts em indivíduos sadios (A e B) e com RCU (C-J).....	35
Figura 4 -	Comparação dos escores de Geboes entre o grupo controle e o retocolite.....	38
Figura 5 -	Comparação dos escores de Robarts entre o grupo controle e retocolite.	39
Figura 6 -	Comparação da resistência basal média entre o grupo controle e retocolite. ...	40
Figura 7 -	Correlação entre o escore de Mayo com a resistência basal média no grupo total	41
Figura 8 -	Correlação entre o escore de Geboes com a resistência basal média no grupo total	41
Figura 9 -	Correlações entre o escore de Robarts com a resistência basal média no grupo total.	42
Figura 10 -	Correlação entre os escores de Geboes e Robarts no grupo total.	42

LISTA DE ABREVIATURAS

CRC	CÂNCER DE CÓLON RETAL
DII	DOENÇA INFLAMATÓRIA INTESTINAL
EGS	ESCORE DE GEBOES SIMPLIFICADO
IHR	ÍNDICE HISTOLÓGICO DE ROBARTS
IMC	ÍNDICE DE MASSA CORPORAL
RCU	RETOCOLITE ULCERATIVA
RETE	RESISTÊNCIA ELÉTRICA TRANSEPITELIAL
TNF α	FATOR DE NECROSE TUMORAL

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1	Descrição e epidemiologia	16
2.2	Fisiopatologia	18
2.3	Diagnóstico, tratamento e métodos de avaliação macroscópico e microscópico	21
2.3.1	<i>Avaliação endoscópica</i>	23
2.3.2	<i>Avaliação Histológica</i>	24
2.4	Função da barreira e integridade da mucosa	25
3	OBJETIVOS	27
3.1	Objetivo geral	27
3.2	Objetivos específicos	27
4	MATERIAIS E MÉTODOS	28
4.1	População de estudo	28
4.2	Aspectos éticos	28
4.2.1	<i>Crítérios de inclusão</i>	28
4.2.2	<i>Crítérios de exclusão</i>	29
4.3	Protocolo experimental	29
4.3.1	<i>Avaliação dos escores endoscópicos da lesão</i>	29
4.4	Avaliação da função da barreira epitelial	31
4.4.1	<i>Montagem das biópsias na Câmara de Üssing</i>	31
4.5	Análise estatística	32
5	RESULTADOS	33
5.1	Casuística	33
5.2	Avaliação endoscópica da mucosa retal	33
5.3	Análise das alterações histológicas de Geboes da mucosa retal	34
5.4	Análise das alterações histológica de Robarts da mucosa retal	37
5.5	Análise histopatológica dos escores de Geboes da mucosa retal	38
5.6	Análise histopatológica dos escores de Robarts da mucosa retal	38
5.7	Avaliação da integridade da mucosa retal por meio da RETE basal da mucosa colônica	39

5.8	Avaliação da correlação entre integridade da mucosa retal e inflamação macroscópica e microscópicas	40
6	DISCUSSÃO	43
7	CONCLUSÃO	47
	APÊNDICE A – FORMULÁRIO DE COLETA DE DADOS	56
	ANEXO A - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA	58
	ANEXO B – ARTIGO SUBMETIDO A PUBLICAÇÃO	62
	ANEXO C – REGRAS DA REVISTA PARA SUBMISSÃO DO ARTIGO	81

1 INTRODUÇÃO

A retocolite ulcerativa (RCU) é uma doença inflamatória crônica, que causa inflamação contínua da mucosa do colón e afeta o reto. É caracterizada por períodos de remissão e recidiva (SILVEBERG *et al.*, 2005), e os sintomas mais comuns incluem diarreia, cólicas abdominais e sangramento retal (SANTANA *et al.*, 2017).

A incidência da retocolite vem aumentando ao longo de décadas, sendo mais elevada na Europa. No entanto, a doença tem imergido em áreas como China, Índia, Córéia do Sul, Líbano, Irã, Tailândia, Antilhas e Norte da África, estando correlacionada a industrialização e ocidentalização dessas áreas (NG SC *et al.*, 2013). Um discreto pico de incidência tem sido mostrado em algumas populações após a quinta década de vida (LOFTUS, 2004). No Brasil, Parente *et al.* (2015) demonstraram a predominância de retocolite em pessoas com menos de 40 anos de idade, mestiças ou de baixa renda, e residentes no nordeste brasileiro.

A patogênese da doença envolve uma interação entre suscetibilidade genética, fatores ambientais, microbioma do hospedeiro e desregulação imunológica (BAUMGART; CARDING, 2007). A sua atividade é estabelecida por parâmetros clínicos, endoscópicos, laboratoriais e de imagem, incluindo histopatológico (MAGRO *et al.*, 2017; MOSLI *et al.*, 2017a). Portanto, esses parâmetros são importantes para a definição do tratamento (NERI *et al.*, 2021.; SHAN *et al.*, 2019).

Existem vários escores para avaliar a inflamação macroscópica e microscópica, sendo mais utilizado o critério de Mayo (KHANNA *et al.*, 2020). A cicatrização da mucosa é definida como ausência de friabilidade, erosões e úlceras em todos os segmentos visualizados da mucosa intestinal (VUITTON *et al.*, 2017). Em relação à histologia, os critérios que estão sendo mais utilizados para estudos clínicos validados são os escores de Geboes (JAUREGUI-AMEZAGA *et al.*, 2017) e Robarts (MOSLI *et al.*, 2017b). Nesses parâmetros microscópicos, são observadas alterações na arquitetura da cripta, presença de criptite, e localização do neutrófilos na lâmina própria e no epitélio e erosão. A atividade histológica da doença mostrou estar associada a recidiva, colectomia e câncer colorretal (MOSLI *et al.*, 2017b).

A disfunção da barreira da mucosa é reconhecida como um fator patogênico na retocolite ulcerativa idiopática e desempenha um papel importante no prognóstico da doença. Falhas ou danos na integridade da mucosa podem levar ao aumento da permeabilidade, que, por sua vez, pode ocasionar um dano inflamatório a região colônica. A cicatrização da mucosa pode ser um fator importante na remissão e na escolha do tratamento mais adequado para o curso clínico da doença (RILEY *et al.*, 1991; ROSENBERG *et al.*, 2013).

A integridade da mucosa pode ser avaliada pelos métodos de permeabilidade e resistência elétrica transepitelial (RETE). Estudos desenvolvidos em nosso grupo de pesquisa têm demonstrado que, em doença do refluxo gastroesofágico, tanto em um modelo experimental murino quanto em biópsias da mucosa esofágica humana, a barreira epitelial desempenha um importante papel na patogênese da inflamação (NICOLAU *et al.*, 2019). Uma vez que o prejuízo da barreira epitelial colônica desempenha importante papel na patogênese da RCU (HELLER *et al.*, 2005; SCHMITZ *et al.*, 1999; VIVINUS-NEBOT *et al.*, 2014), torna-se importante avaliar a integridade da barreira funcional das mucosas retal de pacientes com essa patologia.

A hipótese do presente estudo, portanto, é verificar se pacientes com RCU apresentam uma correlação entre dano da barreira epitelial retal e inflamação macroscópica e microscópica.

Nesse sentido, faltam estudos avaliando a relação entre a integridade da mucosa e os métodos clínicos de avaliação da inflamação histológica e endoscópica. Assim, esta pesquisa teve como objetivo avaliar se existe uma relação entre dano da barreira epitelial do reto e dano inflamatório corelacionado a inflamações macroscópicas e microscópicas em pacientes com RCU.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

A retocolite ulcerativa (RCU), juntamente com a doença de Crohn (DC), representam o grupo de disfunções denominadas de Doença Inflamatória Intestinal (DII). Ambas são crônicas, caracterizadas por processo inflamatório, de causa multifatorial, atualmente sem cura, mas com tratamento. A principal diferença entre elas é que a RCU acomete o cólon e reto, enquanto a DC pode se manifestar em toda extensão do trato gastrointestinal. O diagnóstico da DII depende de ampla investigação, incluindo métodos endoscópicos, história clínica e exames laboratoriais. Na RCU, a colonoscopia e a biópsia são fundamentais. O estudo histológico tem ganhado importância clínica (VAN DER SLOOT *et al.*, 2017).

2.1 Descrição e epidemiologia

A retocolite ulcerativa é uma doença inflamatória crônica que causa inflamação contínua, afetando o reto em torno de 95% dos casos, e também uma extensão do cólon, sendo caracterizada por períodos de remissão e recidiva (MAGRO *et al.*, 2017; SILVEBERG *et al.*, 2005).

Os principais sintomas são sangramento retal e diarreia. A sintomatologia da colite ulcerativa pode apresentar particularidades de acordo com a localização da lesão. Quando a doença acomete o reto e o cólon sigmoide, as fezes podem ser normais ou ressecadas e duras. Se a afecção se estender ao restante do intestino grosso, as fezes tornam-se mais líquidas, e os pacientes podem ter entre 10 e 20 evacuações por dia, seguidas por cólicas intensas e espasmos retais, e acompanhadas da urgência em defecar (RIBEIRO *et al.*, 2016).

O período de remissão da retocolite é definido por meio de uma combinação de parâmetros clínicos. Em períodos em que se encontra em atividade, observam-se sintomas que dependem da extensão e gravidade da doença. Já aumento da frequência intestinal, dor abdominal, anorexia e febre sugerem presença de colite severa (MAGRO *et al.*, 2017). A retocolite pode causar manifestações extraintestinais, tais como mucocutâneas, oculares, hepáticas, neurológicas e cardíacas (NETO, 2020), sendo que artropatias, episclerite e eridema nodoso podem estar presente em 20 % dos casos (LEVINE *et al.*, 2011). Além disso, não é raro o aparecimento de depressão (NETO, 2020).

Pacientes com retocolite são classificados quanto à extensão da doença em: a) proctite, na qual ocorre envolvimento limitado do reto, b) colite do lado esquerdo, que acomete

o cólon distal, e c) colite extensa, na qual acomete além do ângulo esplênico (SILVEBERG *et al.*, 2005).

A retocolite ulcerativa parece afetar igualmente ambos os sexos (FEFFERMAN *et al.*, 2005). De acordo com Loftus (2004), a doença aparece no final da adolescência e no início da idade adulta, embora o diagnóstico possa ser feito em qualquer idade. Um discreto pico de incidência tem sido mostrado em algumas populações após a quinta década de vida. Há relatos na literatura de casos de RCU na população pediátrica, sendo caracterizada por progressão rápida e comorbidades frequentes que podem dificultar o tratamento e a evolução da doença (KUCHARZIK *et al.*, 2020).

A incidência da retocolite vem aumentando ao longo de décadas em todo o mundo. Ainda que venha diminuindo nos países da América do norte e da Europa ocidental (DA SILVA *et al.*, 2015 e 2014), está imergindo em áreas como: China, Índia, Coreia do Sul, Líbano, Irã, Tailândia, Antilhas, Norte da África, estando diretamente relacionada à industrialização e à ocidentalização dessas áreas (NG SC *et al.*, 2013, 2017). A taxa de incidência de RCU pode variar de 0,5 a 31,5 por 100.000 pessoas a cada ano, dependendo da população estudada (DA SILVA *et al.*, 2014; BURISCH.; MUNKHOLM, 2013). Embora a incidência esteja se estabilizando nos países ocidentais, a prevalência permanece alta e ultrapassa 0,3% (NG SC *et al.*, 2017). No Brasil, vários estudos vêm demonstrando que a incidência e a prevalência de RCU e o número de internações têm aumentado significativamente nos últimos anos (SELVARATNAM *et al.*, 2019; SOUZA *et al.*, 2002; VICTÓRIA *et al.*, 2009). Um estudo no nordeste brasileiro demonstrou a predominância de retocolite em pessoas com menos de 40 anos de idade, mestiças ou de baixa renda (PARENTE *et al.*, 2015). A incidência crescente está associada à ocidentalização do estilo de vida (FORBES *et al.*, 2017).

Além disso, a incidência pode estar associada aos seguintes fatores de risco: história familiar de doenças inflamatórias, gastroenterites bacterianas pregressas, ambiente urbano, poluição do ar, uso de antibióticos e de drogas anti-inflamatórias não esteroidais, contraceptivos orais e dieta ocidentalizada (VAN DER SLOOT *et al.*, 2017). Vários componentes da dieta podem afetar a flora bacteriana, gerando disbiose (desequilíbrio da microbiota), diminuindo ou danificando a camada de muco, podendo ocasionar aumento de permeabilidade intestinal ou aumentar a capacidade da microbiota patológica de aderir a células epiteliais ou de translocar através da barreira epitelial.

De acordo com MARTINEZ-MEDINA *et al.*, (2014), a dieta ocidental induz mudanças na composição da microbiota intestinal, altera a homeostase do hospedeiro e promove uma colonização intestinal desfavorável em camundongos geneticamente suscetíveis.

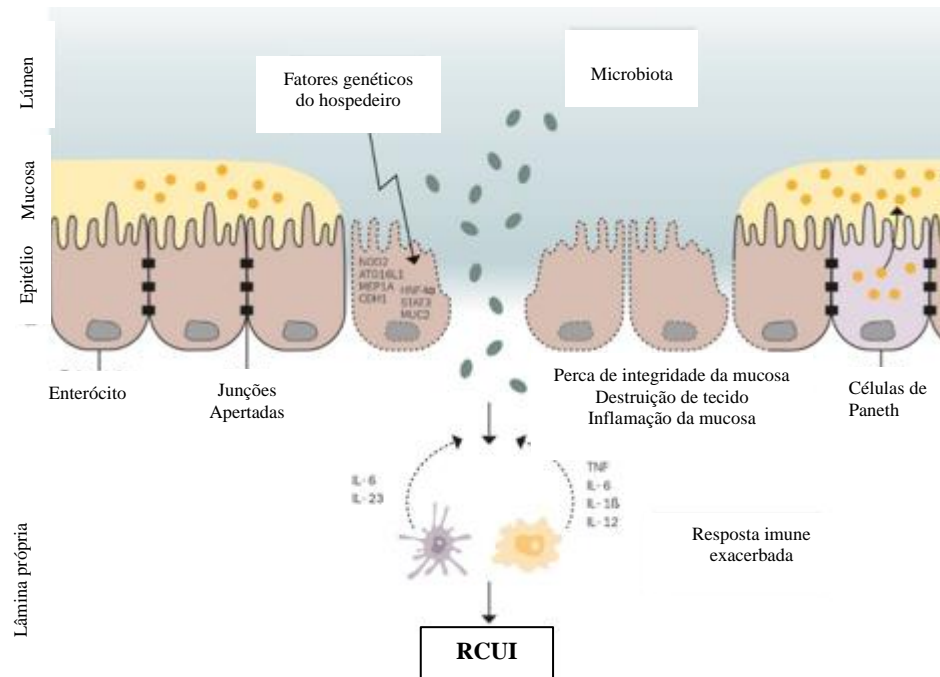
Em relação ao aumento do risco da RCU pelo do uso das drogas anti-inflamatórias não esteroidais, esse fato pode ser explicado devido à diminuição da ciclooxigenase, levando à diminuição das prostaglandinas protetoras na mucosa intestinal, que podem ocasionar um aumento da permeabilidade e causar um dano à integridade da barreira epitelial (JENKINS *et al.*; 1991; MUSUMBA *et al.*, 2009).

2.2 Fisiopatologia

A precisa etiologia da retocolite ainda é desconhecida (SCHIVANANDA *et al.*, 1996). De acordo com Van Der Sloot *et al.* (2017), amamentação, fatores dietéticos, presença de *Helicobacter pyloric* no intestino e vitamina D são fatores de proteção importantes para a retocolite. Estudos em modelo animal mostram que o efeito protetor da alimentação pode ser explicado pela indução da tolerância imunológica a antígenos específicos e a microbiota, pela transferência de anticorpos maternos no leite humano para o bebê e pela alteração da microbiota da flora intestinal (FARIA *et al.*, 1999; KUNZ *et al.*, 2000). Além disso, um estudo de caso-controle pareado, com 256 casos de pacientes com RCU avaliando padrões alimentares com as taxas de incidência da doença, mostrou que uma dieta rica em frutas, vegetais e ácidos graxos w-3, e baixa em ácidos graxos w-6, está associado a um risco reduzido de desenvolver RCU (RACINE *et al.*, 2016).

A patogênese da doença envolve uma interação entre suscetibilidade genética, fatores ambientais, microbioma do hospedeiro e desregulação imunológica (BAUMGART; CARDING, 2007), conforme apresenta a Figura 1.

Figura 1 - Patogênese da RCU



Fonte: Adaptada de Coskun, 2014.

Porém, já se sabe que o processo inflamatório recorrente é resultado da conjunção de fatores relacionados ao conteúdo do canal alimentar (antígenos bacterianos e/ ou alimentares e aumento na permeabilidade intestinal a esses produtos) e da alteração na resposta imunológica da mucosa, geneticamente determinada (FIOCHI, 1998). A falha na eliminação do agente agressor, associada à resposta inflamatória exacerbada, torna o processo inflamatório crônico (RIBEIRO *et al.*, 2016), conforme demonstra a Figura 1. As respostas imunes inatas oferecem a primeira linha de defesa contra qualquer agressão e são mediadas por uma variedade de diferentes tipos celulares, incluindo células imunológicas clássicas, neutrófilos, monócitos, macrófagos e células dendríticas, bem como células não imunes, como epiteliais, endoteliais e mesenquimais. Quando ocorre uma alteração na barreira do epitélio, uma resposta pró-inflamatória é gerada (Figura 1), o que, por sua vez, determina o desenvolvimento das respostas celular e humoral pelo sistema imune adaptativo (FIOCCHI, 2016).

Durante o processo inflamatório, um grande número de neutrófilos infiltra na lâmina própria da mucosa intestinal. Esse infiltrado inflamatório, por sua vez, é acompanhado por intensos danos à mucosa, aumento da permeabilidade, destruição de matriz extracelular, edema, erosão e formação de úlceras. O rompimento da barreira epitelial ocasiona a produção, pelo sistema imune, de citocinas pró-inflamatórias (RIBEIRO *et al.*, 2016).

Muitos estudos têm demonstrado a presença de um desequilíbrio de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IFN- γ , IL-6, IL-1 e IL-12) e anti-inflamatórias (IL-4, IL-10, IL-11) na retocolite ulcerativa (ARDIZZONE; PORRO, 2005). De fato, tem sido observado elevados níveis de expressão proteica de TNF- α em biópsias colônicas de pacientes com retocolite ulcerativa (VIVINUS-NEBOT *et al.*, 2014), evidenciando presença de resposta pró-inflamatória exacerbada.

O comprometimento da barreira intestinal encontrado na colite ulcerativa tem sido amplamente associado a alterações nas moléculas de adesão e complexos juncionais (HELLER *et al.*, 2005; SCHMITZ *et al.*, 1999; VIVINUS-NEBOT *et al.*, 2014).

Moléculas de adesão celular e complexos juncionais desempenham um importante papel na estabilização da integridade tecidual e na função de barreira, a qual é mantida por duas famílias de complexos proteicos: as junções aderentes (AJ) e as *tight junctions* (TJ) (ANDERSON; VAN ITALLIE, 2009; HARTSOCK; NELSON, 2008). As caderinas e as cateninas são as principais proteínas transmembranares que compõem as AJ, enquanto ocludinas e claudinas formam as TJ, que controlam a seletividade iônica e a permeabilidade da via paracelular entre os domínios apical e basolateral das células epiteliais (FÖSTER, 2008). Outra classe de complexos juncionais são as *zonula occludens* (ZO), que são uma família de proteínas ligadas às TJ que desempenham também funções dinâmicas no remodelamento de complexos juncionais (FANNING; ANDERSON, 2009). Por desempenhar funções na homeostase estrutural, as proteínas de adesão têm se mostrado como indicadoras, e até iniciadoras, de patologias que levam à perda da integridade do epitélio (OSHIMA; MIWA, 2016).

A disfunção da barreira da mucosa é reconhecida como um fator patogênico na retocolite ulcerativa (RCU) e desempenha um papel importante no prognóstico da doença. Estudos mostram que falhas ou danos na integridade da mucosa podem levar ao aumento da permeabilidade, que promove a exposição ao conteúdo luminal – o que, por sua vez pode, ocasionar dano inflamatório à região colônica (BENJAMIN *et al.*, 2012; MICHELAN; D'INCA, 2015), figura 1.

Nesse sentido, Vivinus-Nebot e colaboradores (2014), avaliando pacientes com colite ulcerativa, encontraram alterações na barreira epitelial, tais como aumento da permeabilidade paracelular, demonstrando a importância da integridade da barreira epitelial para a fisiopatologia da retocolite ulcerativa. Portanto, a severidade da doença influencia a modalidade do tratamento e a via de administração (MAGRO *et al.*, 2017).

2.3 Diagnóstico, tratamento e métodos de avaliação macroscópico e microscópico

A classificação original para retocolite severa foi proposta por Truelove e Hambling em 1958. A classificação de Truelove e Witts é considerada também um índice para avaliar a atividade da doença em leve, moderada e grave (MAGRO *et al.*, 2017), além de ser fundamental, inclusive, para estabelecer o período de remissão do paciente. Este é definido por meio de uma combinação de parâmetros clínicos, que compreende os seguintes parâmetros: frequência das fezes menor ou igual a três vezes ao dia, ausência de sangue nas fezes e mucosa normal na colonoscopia (TRAVIS *et al.*, 2010).

Não existe um padrão-ouro para o diagnóstico da doença. Ele é estabelecido por parâmetros clínicos, endoscópicos, laboratoriais e de imagem, incluindo parâmetros histopatológicos (MAGRO *et al.*, 2017). É importante estabelecer rapidamente o diagnóstico, a severidade e a extensão da doença, uma vez que isso influencia nas opções de tratamento e na possível progressão da doença (COLLINS, 2006). Os exames laboratoriais devem incluir medição dos parâmetros inflamatórios no sangue (hemograma e proteína C reativa) e nas fezes (concentração de calprotectina fecal ou lactoferrina). Um valor de calprotectina fecal abaixo de 150-200 µg por grama de fezes é considerado um marcador confiável de remissão (KUCHARZIK *et al.*, 2019).

Há mais de 50 anos, Truelove e colaboradores (1958) mostraram que desfechos clínicos endoscópicos e histológicos poderiam ser considerados para avaliar pacientes com RCU. O tratamento mudou profundamente nos últimos anos, devido à crescente disponibilidade de terapias altamente eficazes. Em ritmo semelhante, as metas de tratamento também evoluíram (D'AMICO *et al.*, 2020.; PEYRIN-BIROULT *et al.*, 2015). Portanto, o alvo da terapia na RCU testemunhou uma mudança de paradigma: antes, a atividade da doença era avaliada, fundamentalmente, por melhora sintomática e cicatrização endoscópica da mucosa; mas, atualmente, estudos mostram que, para o diagnóstico, deve-se levar em consideração também a cicatrização histológica (KHANNA *et al.*, 2022; SHAH *et al.*, 2019).

Nesse sentido, a indicação do tratamento adequado pode se beneficiar com a avaliação da atividade endoscópica, bem como dos escores histológicos (NERI *et al.*, 2021; SHAH *et al.*, 2019). Porém, segundo alguns estudos, nem sempre a cicatrização endoscópica está relacionada com a cicatrização microscópica (SHAH *et al.*, 2019).

Um estudo de coorte norueguês mostrou que a cicatrização da mucosa foi associada a risco reduzido de colectomia na RCU, a menor inflamação em cinco anos e a menor necessidade de tratamento com corticosteroides. (FROSLIE, 2007).

O tratamento da retocolite ulcerativa dependerá da sua extensão e da gravidade das lesões. As metas do tratamento são: reduzir a inflamação, manter a remissão livre de corticoides, recuperar ou manter o estado nutricional, e evitar a colectomia e complicações tardias, como câncer de colorretal. Os fármacos mais utilizados no tratamento convencional são: antiperistálticos, antidiarreicos, antibióticos, aminosalicilatos orais e por via retal, e corticoterapia (para os pacientes refratários ao tratamento) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020; NETO, 2020).

Os tratamentos atuais para RCU incluem imunomoduladores, agentes anti-inflamatórios e biológicos, a exemplo do infliximab, um antagonista do fator de necrose tumoral alfa (TNF α). O TNF α é um componente da resposta inflamatória e a terapia com infliximab induz a cicatrização da mucosa (LICHTENSTEIN; RUTGEERTS, 2010; RUTGEERTS *et al.*, 2005). Esse fármaco atua neutralizando TNF α , ligando-se diretamente a essa citocina, induzindo a apoptose em células T ativadas que expressam TNF α , ou afetando diretamente as vias de TNF α para diminuir a expressão de citocinas (SCALLON *et al.*, 2002; TEN HOVE *et al.*, 2002). Infliximab, adalimumab, golimumab e ustekinumab são exemplos de outros agentes anti-TNF α que atuam reduzindo a inflamação e alterando a resposta imune (RUTGEERTS *et al.*, 2005).

A terapia convencional e as drogas anti-TNF α são eficientes na indução da remissão histológica na RCU. Pacientes em uso de Infliximabe mostraram remissão em 58% dos casos, após 11 meses de tratamento (DAL BUONO *et al.*, 2020).

O tratamento da RCU na fase aguda da doença em intensidade leve a moderada consiste no uso de aminosalicilatos orais e tópicos e de corticoterapia. Em uma metanálise, foi observado que a terapia tópica de aminosalicilatos tem melhor efeito na cicatrização da mucosa e na doença distal, tanto na fase de indução quanto na manutenção da RCU (HARBORD *et al.*, 2017). Portanto, a mesalazina, em várias formas de administração, continua sendo o tratamento padrão para RCU leve e sem complicações (KUCHARZIK *et al.*, 2020).

O uso de corticoides é indicado em pacientes refratários aos aminosalicilatos ou em fases de indução da remissão nos pacientes com doença moderada a severa. Portanto, ciclos de corticoides devem ser restritos a no máximo três meses. e a terapia com outro fármaco deve ser considerada para qualquer paciente que necessite de mais de um único ciclo de corticoide sistêmico em um ano, ou para os apresentem um surto da doença após a redução gradual desse fármaco (RAINE *et al.*, 2022). Os corticoides são medicamentos potentes do ponto de vista da remissão, porém, seus efeitos colaterais os contraindicam como terapia de manutenção.

Sintomas como aumento de peso, edema, síndrome de Cushing, osteoporose, insônia e esteatose hepática são efeitos colaterais mais comuns no uso desses fármacos (NETO, 2020).

Quando as medidas clínicas são ineficazes para o alívio dos sintomas, a indicação é cirúrgica. A probabilidade do paciente ser submetido à colectomia com tempo de doença igual ou superior a 25 anos fica em torno de 32%. Além disso, a extensão da doença e o alto nível de atividade são fatores decisivos para a indicação de colectomia. Porém, a cirurgia só é indicada quando o nível de atividade da doença resulta em grave crise sustentada sem resposta ao tratamento ou quando há piora no quadro clínico (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020).

2.3.1 Avaliação endoscópica

A endoscopia desempenha um papel essencial no diagnóstico, no manejo, no prognóstico e na vigilância da doença inflamatória intestinal. Na RCU, as alterações endoscópicas iniciam próximo à margem anal e estendem-se de forma contínua, confluyente e concêntrica. A doença endoscopicamente inativa está associada à ausência de sangramento retal (RAINE *et al.*, 2022).

Existem vários escores para avaliar a inflamação macroscópica, sendo o critério de Mayo o mais utilizado, tanto na prática clínica como em ensaios clínicos (KHANNA *et al.*, 2022) (Tabela 1). Sua classificação possui quatro escores, que variam de 0 (mucosa sem inflamação) a 3 (inflamação grave), e inclui avaliação de eritema, padrão vascular, erosão, friabilidade, sangramento espontâneo e ulceração (KHANNA *et al.*, 2022). De acordo com esse escore, a cicatrização da mucosa é definida pela ausência de friabilidade, erosões e úlceras em todo seguimentos da mucosa intestinal, e está associada à diminuição do risco de recidivas e de morbidade associada à doença (VUITTON *et al.*, 2017).

Tabela 1 - Escore endoscópico de Mayo

Escore endoscópico de Mayo	
Aparência endoscópica	Escore endoscópico de Mayo
Mucosa normal	0
Vascularização diminuída, friabilidade leve e eritema	1
Ausência de padrão vascular, eritema acentuado, friabilidade severa e erosões	2
Sangramento espontâneo e ulceração	3

Fonte: adaptado de Shah, 2019.

2.3.2 Avaliação Histológica

A avaliação da atividade histopatológica tem muitas aplicações potenciais na pesquisa em RCU (MOSLI *et al.*, 2017a). A lesão microscópica da mucosa na RCU ativa é caracterizada por infiltrado de células inflamatórias crônicas, abscesso de cripta, depleção de mucina e ulcerações na superfície. Durante a fase de cicatrização da mucosa, a continuidade epitelial é restaurada, o infiltrado e os abscessos desaparecem e a depleção de mucina melhora. A atividade histológica da doença mostrou estar associada a recidiva, uso prolongado de corticoides, complicações a longo prazo, colectomia, maior taxa de hospitalização e câncer colorretal (MOSLI *et al.*, 2017b; VESPA *et al.*, 2022).

Muitos índices têm sido descritos para avaliar a atividade macroscópica da RCU desde 1950 (BRESSENOT *et al.*, 2015, RILEY *et al.*, 1991, POWELL-TUCK, 1982). Mosli *et al.* (2017b) identificou 18 sistemas de pontuação histológica para a RCU, porém os índices que têm sido mais amplamente utilizados para estudo clínicos são os de Geboes (JAUREGUI-AMEZAGA *et al.*, 2017) e de Robarts. Nesses parâmetros microscópicos, são observadas alterações na arquitetura da cripta, presença de criptite, localização do neutrófilos na lâmina própria e no epitélio e erosão.

O escore histológico de Geboes simplificado (EGS) foi feito a partir do escore de Geboes original (EGS). Ele avalia a cura histológica e descreve características histológicas que são divididas em cinco graus de classificações, variando de 0 (sem atividade inflamatória) a 4 (injúria epitelial), sendo cada grau dividido em subclasses que recebem pontuações de acordo com as características da biópsia. Os graus 0, 1, 2A e 2B são anormalidades microscópicas da fase inativa, que compreendem mudanças arquitetônicas e infiltrado de células mononucleares; já os graus 3 e 4 se referem à fase ativa da RCU (Geboes *et al.*, 2000).

Foram incluídos para EGS, além das variáveis relacionadas à inflamação ativa e inativa, a plasmocitose basal, pois foi previamente identificado como possível preditor de recidiva (BESSISSOW *et al.*, 2012; BITTON *et al.*, 2001). Um estudo de coorte feito com pacientes com RCU entre 2005 e 2010, com análise de endoscopias seriadas, mostrou que a PB estava ausente naqueles casos sem neutrófilos em criptas ou sem nenhum dano epitelial, mas estava presente nas biópsias que apresentavam inflamação grave (JAUREGUI-AMEZAGA *et al.*, 2017).

Outra característica importante avaliada nesse escore se refere à presença de eosinófilos na lâmina própria, pois estão presentes em ambas as fases da RCU, e a gravidade da infiltração destes na lâmina própria tem sido associada à recidiva na retocolite ulcerativa

idiopática. Além disso, outro marcador de aumento da gravidade para a atividade de doença é a presença de lesão epitelial em associação com neutrófilos (MAGRO *et al.*, 2013; ZEZOS *et al.*, 2014).

O resultado para esse índice histológico é o valor da subclasse mais alta, que mostra a maior atividade da doença (JAUREGUI-AMEZAGA *et al.*, 2017). A pontuação maior que 3,1 indica atividade histológica ativa (BESSISSOW *et al.*, 2012).

O outro indicador histológico que utilizamos em nosso estudo foi de Índice Histopatológico de Robarts (IHR). É um dos índices histopatológicos recomendados pela Organização Europeia de Crohn e Colite, e é derivado principalmente do escore de Geboes original (VESPA *et al.*, 2022). Ele é formado por quatro graus: infiltrado inflamatório crônico, neutrófilos na lâmina própria, neutrófilos no epitélio e erosões ou ulcerações. Cada grau possui quatro níveis de graduação, cuja escala vai de zero a três. Sua pontuação total varia de 0 (sem atividade) a 33 (atividade grave da doença), e é calculada através da seguinte fórmula:

$$\text{RHI} = 1 \times \text{nível inflamatório crônico (4 níveis)} + 2 \times \text{neutrófilos na lâmina própria (4 níveis)} + 3 \times \text{neutrófilos no epitélio (4 níveis)} + 5 \times \text{erosão ou ulceração (4 níveis após combinação de Geboes 5,1 e 5,2)} \quad (\text{MOSLI } et al., 2015) \quad (1)$$

Na RCU, a remissão histológica é definida com IHR < 3, e a atividade histológica, com IHR > 9 (MAGRO *et al.*, 2020).

2.4 Função da barreira e integridade da mucosa

A função da barreira epitelial, ou permeabilidade intestinal, é influenciada por vários estímulos fisiológicos, patológicos e farmacológicos (MICHELAN; D'INCA, 2015).

Os elementos que formam a barreira epitelial intestinal podem ser classificados em extracelulares, que são composto por enzimas digestivas e muco, e celulares, tais como muco, criptas, microvilosidades. A superfície da mucosa é composta por muco, que limita a exposição das células epiteliais da ação de patógenos ou traumas. O muco protege o epitélio intestinal contra os microrganismos luminiais, destruindo-os e evitando a sua adesão à mucosa e ao epitélio (RODRIGUES *et al.*, 2016).

Outro componente da barreira intestinal é a camada de células epiteliais. Estas células, por sua vez, fornecem barreira estrutural, fabricam a maioria dos componentes da barreira secretada, são sensores do ambiente externo e emitem sinais que regulam a imunidade inata e adaptativa subjacente (MCGUCKIN *et al.*, 2009).

As junções estreitas (JEs) são complexos de múltiplas proteínas localizados nas extremidades apicais das membranas laterais das células epiteliais intestinais. Quatro proteínas transmembranares integrais têm sido identificadas: ocludina, claudinas e moléculas de adesão juncional (LEE, 2015). De acordo com Toedter *et al.* (2012), o aumento da permeabilidade pode ser causado por alterações nas JEs.

Vários estudos mostram que a ruptura da barreira intestinal é influenciada pela permeabilidade intestinal (LACERDA *et al.*, 2021, VIVINUS-NÉBOT *et al.*, 2014). Danos à permeabilidade são caracterizados por vários distúrbios inflamatórios crônicos, que estão associados ao comprometimento de proteínas estruturais essenciais, localizadas nas junções firmes. A manutenção da barreira funcional intestinal é um processo corregulado por mediadores: células epiteliais, células do sistema imune, microbiota e sistema nervoso entérico. A seletividade é proporcionada pelas junções firmes e é formada por um complexo de mutiproteínas transmembranares. Este complexo regula o transporte paracelular de íons (Lacerda *et al.*, 2021).

Alguns métodos experimentais são empregados para avaliar a integridade epitelial. Dentre esses métodos existe a Câmara de Üssing, que utiliza a resistência elétrica transepitelial (soma da resistência transcelular e da resistência paracelular) (VIDYASAGAR S.; MACGREGOR *et al.*, 2016).

Nesse sentido, faltam estudos avaliando a relação entre a integridade da mucosa e os métodos clínicos de avaliação da inflamação histológica e endoscópica. Assim, este estudo teve como objetivo avaliar se existe uma relação entre o dano da barreira epitelial do reto e o dano inflamatório correlacionado a inflamações macroscópicas e microscópicas em pacientes com RCU.

Tornam-se importantes os estudos no sentido de elucidar o mecanismo desses distúrbios funcionais. No entanto, a maioria desses estudos estão limitados à experimentação animal, sendo importante considerar a realização de estudos translacionais que objetivem a experimentação em humanos.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a relação entre comprometimento da barreira epitelial retal e dano inflamatório em pacientes com retocolite ulcerativa idiopática.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar a integridade da mucosa retal, por meio da verificação da Resistência Elétrica Transepitelial basal (RETE);
- Avaliar a correlação entre a integridade da mucosa retal e a inflamação macroscópica, segundo o escore endoscópico de Mayo;
- Avaliar a correlação da integridade da mucosa retal e a inflamação microscópica, segundo o escore histológicos de Geboes;
- Avaliar a correlação da integridade da mucosa retal e a inflamação microscópica, segundo o escore histológicos e Robarts.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 População de estudo

Para este estudo, 24 pacientes foram selecionados e divididos em dois grupos. O primeiro, denominado grupo controle, era formado por 14 voluntários sadios (sem queixas de sintomas ou de doença crônica e inflamatória intestinal e que foram submetidos a colonoscopia para triagem de câncer de cólon retal), provenientes do serviço de Endoscopia Digestiva do Hospital Universitário Walter Cantídio da Universidade Federal do Ceará (HUWC-UFC). O segundo grupo era composto por 10 voluntários com diagnóstico de retocolite ulcerativa em atividade (com diarreia e sangramento ativo), provenientes do Ambulatório de Doenças Inflamatórias Intestinais do HUWC-UFC.

4.2 Aspectos éticos

Esta pesquisa seguiu a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde e a Declaração de Helsinki, e foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Hospital Universitário Walter Cantídio – UFC, sob o número 3.245.468 de 04 de abril de 2019 (CAAE 04198818.3.0000.5045).

4.2.1 Critérios de inclusão

Para a condução desta pesquisa, foram considerados os seguintes critérios de inclusão:

- a) Indivíduos controle com idade superior ou igual a 18 anos, de ambos os sexos, sem sintomas gastrointestinais e sem retocolite ulcerativa (sujeitos a colonoscopia para triagem de câncer de cólon retal);
- b) Indivíduos com idade superior a 18 anos, de ambos os sexos sujeitos a colonoscopia, com sintomas típicos de retocolite ulcerativa em atividade (classificado de acordo com os critérios de Mayo maior ou igual a 2) e com sintomas gastrointestinais;
- c) Ter consentido em participar do estudo.

4.2.2 Critérios de exclusão

Os critérios de exclusão que nortearam o presente estudo foram os seguintes:

- a) Portadores de doenças digestivas que não a retocolite ulcerativa;
- b) Portadores de retocolite ulcerativa idiopática em remissão da doença;
- c) Indivíduos com faixa etária inferior a 18 anos;
- d) Portadores de doença hepática;
- e) Portadores de doença renal;
- f) Portadores de doença cardiovascular instável,
- g) Portadores de neoplasia do trato digestório;
- h) Gestantes;
- i) Indivíduos com registros médicos incompletos;
- j) Indivíduos com alteração cognitiva que dificultasse a colaboração com o estudo;
- k) Portadores de discrasias sanguíneas ou em uso de anti-inflamatórios.
- l) Indivíduos que não desejem participar do estudo.

4.3 Protocolo experimental

Durante o procedimento da colonoscopia, um gastroenterologista experiente aplicou os escores endoscópicos de Mayo, que é um método usado como ferramenta para a classificação da atividade da doença (SCHROEDER *et al.*, 1997). Essa pontuação endoscópica varia de 0, que tem como característica a mucosa normal, a 3, que caracteriza a retocolite em atividade severa. Após a classificação do escore endoscópico de Mayo, cinco biópsias retais foram retiradas de cada paciente, e uma delas foi colocada em um tubo, contendo um volume pré-definido de formol tamponado neutro a 10 %, e enviado para lâmina histológica. As quatro biópsias restante foram transportadas, em gelo, utilizando solução de Krebs (composta por 145 mM de NaCl, 0,4 mM de KH₂PO₄, 1,6 mM de K₂HPO₄, 5 mM de glicose, 1 mM de MgCl₂ e 1,2 mM de CaCl₂, pH 7,4), para o Laboratório de Estudos da Fisiologia-Gastroenterologia, a fim de avaliar a resistência elétrica transepitelial basal na câmara de Üssing (Mussler Scientific Instruments, Aachen, Alemanha).

4.3.1 Avaliação dos escores endoscópicos da lesão

Para cada tubo recebido no laboratório de patologia, um bloco de parafina foi feito e uma lâmina correspondente foi corada com hematoxilina-eosina.

Após confeccionadas, as lâminas foram analisadas às cegas por um patologista experiente, e foram atribuídos escores microscópicos de acordo com o grau de lesão encontrado, sendo realizadas duas análises diferentes: uma seguindo os critérios de Geboes simplificado (Tabela 1), e outra os critérios de Robarts (Tabela 2).

Em seguida, os escores de Geboes (JAUREGUI-AMEZAGA *et al.*, 2017) e Robarts (MOSLI MH *et al.*, 2017) do grupo controle foram comparados com o grupo com retocolite ulcerativa (RCU), passando a ser realizada a correlação entre os índices desses dois modelos de escores microscópicos.

Tabela 2 - Escore de Geboes Simplificado

Grau 0: Sem atividade inflamatória	0.0 Sem anormalidades 0.1 Presença de alterações arquitetônicas 0.2 Presença de alterações arquitetônicas e infiltrado crônico de células mononucleares
Grau 1: Células plasmáticas basais	1.0 Sem aumento 1.1 Aumento leve 1.2 Aumento acentuado
Grau 2A: Eosinófilos na lâmina própria	2A.0 Sem aumento 2A.1 Aumento leve 2A.2 Aumento acentuado
Grau 2B: Neutrófilos na lâmina própria	2B.0 Sem aumento 2B.1 Aumento leve 2B.2 Aumento acentuado
Grau 3: Neutrófilos no epitélio	3.0 Nenhum 3.1 < 50% criptas envolvidas 3.2 > 50% de criptas envolvidas
Grau 4: Lesão epitelial [em cripta e epitélio de superfície]	4.0 Nenhum 4.1 Atenuação marcada 4.2 Provável destruição de cripta: prováveis erosões 4.3 Destruição de cripta inequívoca: erosão inequívoca 4.4 Úlcera ou tecido de granulação

Fonte: Jauregui-Amezaga *et al.*, 2017.

Tabela 3 - Escore de Robarts

Infiltrado inflamatório crônico	0=Sem aumento 1=Aumento leve, mas inequívoco 2=Aumento moderado 3=Aumento marcado
Neutrófilos da lâmina própria	0=Sem aumento 1=Aumento leve, mas inequívoco 2=Aumento moderado 3=Aumento marcado
Neutrófilos no epitélio	0=Nenhum 1=<5% criptas envolvidas 2=<50% criptas envolvidas 3=>50% criptas envolvidas
Erosão ou ulceração	0=Sem erosão, ulceração ou tecido de granulação 1=Epitélio em recuperação + inflamação adjacente 1=Provável erosão - despojado focalmente 2=Erosão inequívoca 3=Úlcera ou tecido de granulação

Fonte: Mosli *et al.*, 2017

4.4 Avaliação da função da barreira epitelial

4.4.1 Montagem das biópsias na Câmara de Üssing

Das cinco biópsias retais retiradas na colonoscopia, quatro foram transportadas em solução de Krebs (composta por 145 mM de NaCl, 0,4 mM de KH₂PO₄, 1,6 mM de K₂HPO₄, 5 mM de glicose, 1 mM de MgCl₂ e 1,2 mM de CaCl₂, pH 7,4), em gelo, para o Laboratório de Estudos da Fisiologia Farmacologia Gastrointestinal. A partir disso, com o auxílio de uma lupa estereoscópica, foram identificados os lados luminal e seroso das biópsias. Em seguida, elas foram montadas em minicâmaras de Üssing (Mussler Scientific Instruments, Aachen, Alemanha), adaptadas especialmente para avaliação das biópsias da mucosa retal, com uma área de exposição de 0,017cm². Após a montagem, foram adicionadas à solução de Krebs em ambos os lados luminal e seroso (3,5 ml/semicâmara), sendo este mantido aerado com uma mistura carbogênica (95% de O₂ e 5% de CO₂) e com uma temperatura constante de 37°C (KEITA *et al.*, 2015). As biópsias que não cobriram completamente a área de da câmara foram descartadas.

A correção da resistência elétrica do meio e do circuito foi realizada inicialmente e acompanhada permanentemente por meio de eletrodos Ag/AgCl. Em seguida, foi realizada a

montagem das biópsias na câmara de Üssing, conforme descrito anteriormente. A RETE basal foi calculada de acordo com a lei de Ohm, a partir das deflexões de voltagem induzidas por pulsos bipolares de corrente de 50 μ A com duração de 200 ms, a cada 6 s, aplicados por meio de fios de platina (TOBEY et al., 2004). Todos os experimentos foram conduzidos em condições de circuito aberto. Após 30 minutos, o sistema obteve então a estabilidade, sendo possível estabelecer o valor da RETE basal. A média da RET basal das quatro biópsias de cada paciente foi considerada a RETE basal daquele paciente.

Nesse experimento, foram analisados a RETE basal do grupo controle com o grupo RCU, e a correlação entre o escore endoscópico de Mayo e RETE basal, assim como os escores de Geboes e a RETE basal, além dos escores de Robarts e RETE basal.

4.5 Análise estatística

As variáveis categóricas foram expressas como contagens absolutas e porcentagens. Para as comparações entre os dados categóricos, foram utilizados os testes qui-quadrado e exato de Fisher. Todas as variáveis quantitativas foram testadas quanto à distribuição normal por meio do teste de Shapiro-Wilk. Os dados normais foram então expressos como média \pm desvio. Para as comparações dos dados quantitativos entre os grupos, utilizou-se o teste t de Student ou o teste de Mann-Whitney, conforme apropriado. Para análise de correlação entre as variáveis quantitativas, foi utilizado o teste não paramétrico de Spearman. Os dados foram analisados usando o software GraphPad Prism versão 8 para Windows. Para todos os testes, $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

5 RESULTADOS

5.1 Casuística

Ao todo, foram incluídos 24 participantes, sendo 10 pacientes com retocolite ulcerativa (RCU) e 14 controles. O grupo RCU apresentou menor idade em comparação aos controles ($35 \pm 7,7$ versus $49,9 \pm 14,7$ anos, $p=0,004$). O gênero foi semelhante entre os grupos, sendo que o grupo RCU apresentou predominância do sexo feminino (90%). Além disso, os níveis de índice de massa corpórea, tabagismo e história familiar de doença inflamatória intestinal não tiveram significância estatística com a presença de RCU (Tabela 4).

Tabela 4 - Características gerais dos pacientes incluídos

	Grupos		p*
	Controle (n=14)	RCU (n=10)	
Idade, anos	49,9 ± 14,7	35 ± 7,7	0,004
Gênero, feminino	7 (50)	9 (90)	0,079
IMC, kg/m²	28,3 ± 5	24,9 ± 4,3	0,107
Tabagismo	2 (14,3)	0 (0)	0,493
Histórico familiar de DII	1 (8,3)	1 (11,1)	1,000

Nota: Os dados qualitativos foram expressos como contagens absolutas e porcentagens entre parênteses. Dados contínuos expressos em média ± desvio padrão.

DII: Doença inflamatória intestinal. RCU: Retocolite ulcerativa. IMC: índice de massa corpórea.

*Teste do qui-quadrado ou exato de Fisher foram usados para dados qualitativos, e teste t de Student para dados contínuos.

Foi observado que o tempo de doença dos pacientes com retocolite ulcerativa teve uma mediana de 9 anos (AIQ: 4 – 14). Em relação às medicações usadas, a mesalazina foi o fármaco mais frequentemente usado (70%), seguido dos corticoides (40%) e da azatioprina (20%). Quanto à classificação por extensão da doença, foi observado que a proctite foi a mais frequente, com 40% de ocorrência, seguida da colite esquerda (20%), pancolite (20%) e proctosigmoidite (20%). Os pacientes com retocolite tiveram índice Mayo com uma mediana de 2 (AIQ: 2 – 3).

5.2 Avaliação endoscópica da mucosa retal

Figura 3 - Análises histológicas para escore de Geboes e Robarts em indivíduos sadios (A e B) e com RCU (C-J).

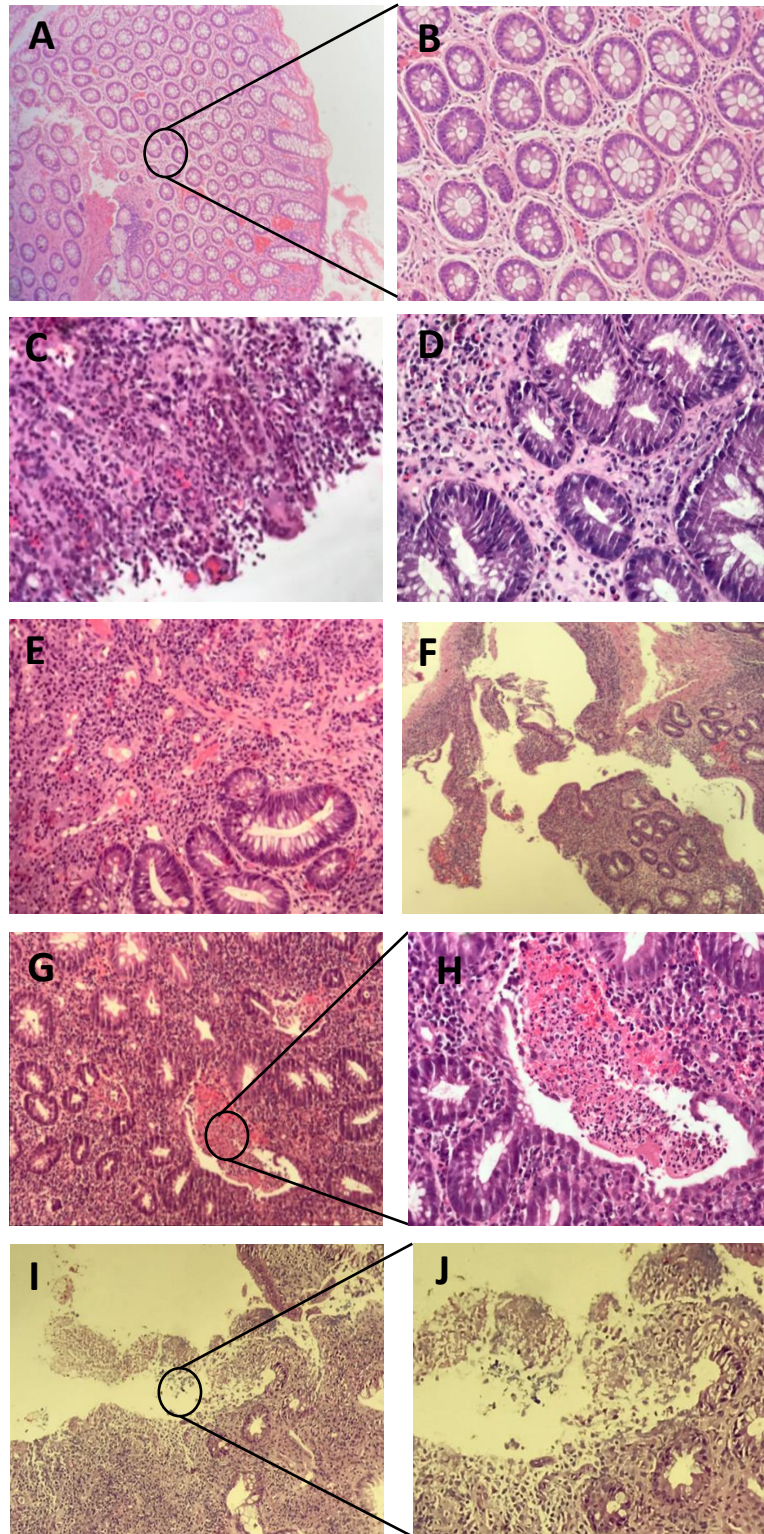


Tabela 5 - Comparação das anormalidades na análise de Geboes entre os grupos controle e retocolite ulcerativa.

<i>Geboes</i>	Grupos		p*
	Controle (n=14)	RCU (n=10)	
Sem atividade inflamatória			0,001
<i>Sem anormalidades</i>	14 (100)	2 (20)	
<i>Presença de mudanças arquitetônicas</i>	0 (0)	2 (20)	
<i>Presença de alterações arquitetônicas e infiltrado crônico de células mononucleares</i>	0 (0)	6 (60)	
Células plasmáticas basais			0,011
<i>Sem aumento</i>	14 (100)	5 (50)	
<i>Aumento leve</i>	0 (0)	3 (30)	
<i>Aumento marcado</i>	0 (0)	2 (20)	
Eosinófilos na lâmina própria			0,001
<i>Sem aumento</i>	14 (100)	0 (0)	
<i>Aumento leve</i>	0 (0)	9 (90)	
<i>Aumento marcado</i>	0 (0)	1 (10)	
Neutrófilos na lâmina própria			0,001
<i>Sem aumento</i>	14 (100)	3 (30)	
<i>Aumento leve</i>	0 (0)	6 (60)	
<i>Aumento marcado</i>	0 (0)	1 (10)	
Neutrófilos no epitélio			0,003
<i>Nenhum</i>	14 (100)	3 (30)	
<i>< 50% de criptas envolvidas</i>	0 (0)	6 (60)	
<i>> 50% criptas envolvidas</i>	0 (0)	1 (10)	
Lesão epitelial (na cripta e epitélio superficial)			0,003
<i>Nenhum</i>	14 (100)	3 (30)	
<i>Provável destruição de cripta: prováveis erosões</i>	0 (0)	2 (20)	
<i>Destruição inequívoca de cripta: erosão inequívoca</i>	0 (0)	3 (30)	
<i>Úlcera ou tecido de granulação</i>	0 (0)	2 (20)	

Nota: Os dados são expressos como contagens absolutas e porcentagens entre parênteses.

*Utilizou-se o teste do qui-quadrado. RCU: Retocolite ulcerativa.

Fonte: Elaborado pelo autor.

5.4 Análise das alterações histológica de Robarts da mucosa retal

Na análise histológica de Robarts, o grupo RCU também apresentou maior frequência de alterações microscópicas, incluindo o aumento do infiltrado inflamatório crônico ($p=0,012$), aumento de neutrófilos na lâmina própria ($p=0,003$), aumento de neutrófilos no epitélio ($p=0,003$) e mais erosão ou ulceração ($p=0,004$) (figura 3F), em comparação com o grupo controle (Tabela 6) (Figura 3A e 3B).

Tabela 6. Comparação das anormalidades na análise de Robarts entre os grupos controle e retocolite.

<i>Robarts</i>	Grupos		p*
	Controle (n=14)	RCU (n=10)	
Infiltrado inflamatório crônico			0,012
<i>Aumento leve, mas inequívoco</i>	14 (100)	5 (50)	
<i>Aumento moderado</i>	0 (0)	3 (30)	
<i>Aumento marcado</i>	0 (0)	2 (20)	
Neutrófilos na lâmina própria			0,003
<i>Nenhum</i>	14 (100)	3 (30)	
<i>Aumento leve, mas inequívoco</i>	0 (0)	3 (30)	
<i>Aumento moderado</i>	0 (0)	3 (30)	
<i>Aumento marcado</i>	0 (0)	1 (10)	
Neutrófilos no epitélio			0,003
<i>Nenhum</i>	14 (100)	3 (30)	
<i>< 5% de criptas envolvidas</i>	0 (0)	4 (40)	
<i>< 50% de criptas envolvidas</i>	0 (0)	1 (10)	
<i>>50% criptas envolvidas</i>	0 (0)	2 (20)	
Erosão ou ulceração			0,004
<i>Sem erosão, ulceração ou tecido de granulação</i>	14 (100)	4 (40)	
<i>Recuperação do epitélio + inflamação adjacente</i>	0 (0)	4 (40)	
<i>Úlcera ou tecido de granulação</i>	0 (0)	2 (20)	

Nota: Dados expressos como contagens absolutas e porcentagens entre parênteses.

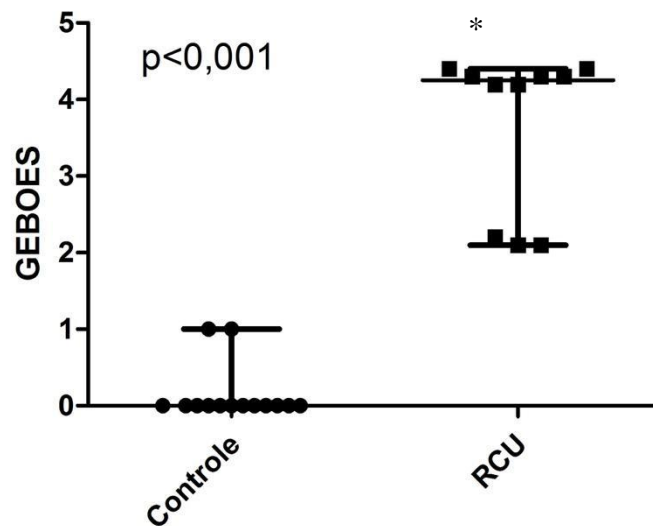
*Utilizou-se o teste do qui-quadrado. RCU: Retocolite ulcerativa.

Fonte: Elaborado pelo autor.

5.5 Análise histopatológica dos escores de Geboes da mucosa retal

A avaliação histopatológica mostra que o grupo RCU apresentou alterações estatísticas nos critérios microscópicos quando comparados ao grupo controle. Ao compararmos as pontuações de Geboes, o mesmo efeito observado com índice de Mayo (Figura 2) ocorreu com esse escore histológico. O grupo RCU apresentou níveis elevados de pontuação de Geboes (RCU 4,3 [2,2 – 4,3] vs CTRL 0 [0 – 0], $p < 0,001$) em comparação com o grupo controle (Figura 4).

Figura 4 - Comparação dos escores de Geboes entre o grupo controle e o retocolite.

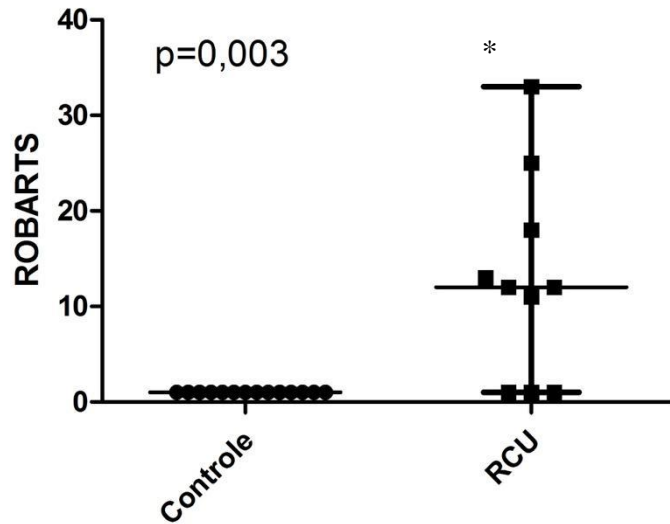


Fonte: Dados da pesquisa
 Barras que representam a mediana e o intervalo interquartil.
 RCU: Retocolite ulcerativa.
 O teste de Mann-Whitney foi usado para valor de p.

5.6 Análise histopatológica dos escores de Robarts da mucosa retal

Analisando as alterações histológicas segundo os critérios de Robarts, foi possível observar que o grupo RCU apresentou índice significativamente maior de escores microscópicos (12 [1 – 18] vs 1 [1 – 1], $p = 0,003$, respectivamente) em comparação com o grupo controle (Figura 5).

Figura 5 - Comparação dos escores de Robarts entre o grupo controle e retocolite.

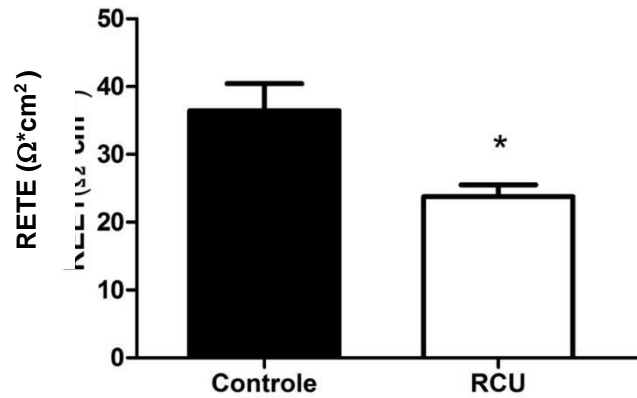


Fonte: Dados da pesquisa
 Barras que representam a mediana e o intervalo interquartil.
 RCU: Retocolite ulcerativa.
 O teste de Mann-Whitney foi usado para valor de p.

5.7 Avaliação da integridade da mucosa retal por meio da RETE basal da mucosa colônica

Nessa análise experimental, foi avaliada a integridade da mucosa retal por meio da resistência elétrica transepitelial (RETE). A mucosa retal do grupo RCU apresentou menor RETE ($24 \pm 5,6 \Omega \cdot \text{cm}^2$) quando comparado ao grupo ($36 \pm 15 \Omega \cdot \text{cm}^2$, $p=0,010$) (Figura 6).

Figura 6 - Comparação da resistência basal média entre o grupo controle e retocolite.



Fonte: Dados da pesquisa

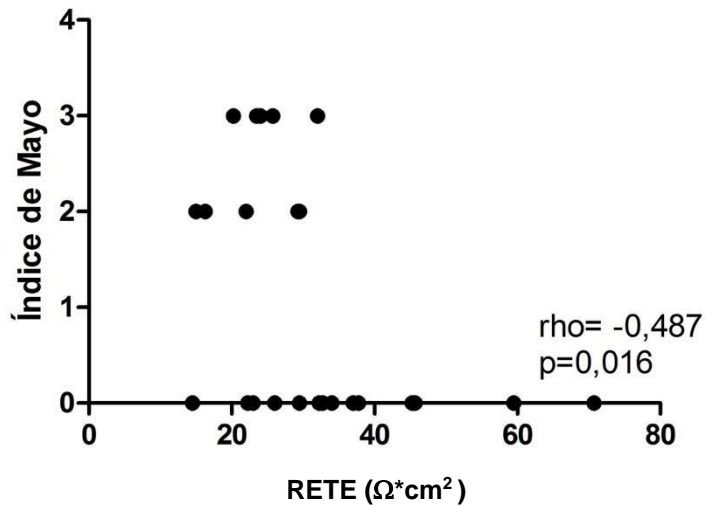
Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média e foram analisados pelo teste t de Student. * $p < 0,05$.

RETE: Resistência elétrica transepitelial/ RCU: Retocolite ulcerativa.

5.8 Avaliação da correlação entre integridade da mucosa retal e inflamação macroscópica e microscópicas

Na análise do grupo total, o RETE apresentou correlação inversa significativa com os escores de Mayo ($\rho = -0,487$, $p = 0,016$) e com o escore de Geboes ($\rho = -0,577$, $p = 0,003$) (Figuras 7 e 8, respectivamente). No entanto, não foi observada significância estatística na correlação entre o RETE e o escore de Robarts ($\rho = -0,232$, $p = 0,276$) (figura 9). Por outro lado, Robarts teve uma importante correlação positiva com o escore de Geboes ($\rho = 0,826$, $p < 0,001$) (Figura 12).

Figura 7 - Correlação entre o escore de Mayo com a resistência basal média no grupo total.



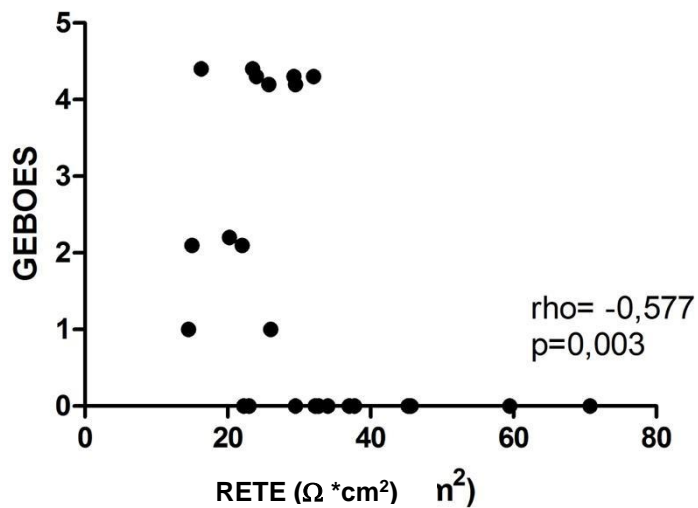
Fonte: Dados da pesquisa

Foi utilizada a correlação não paramétrica de Spearman com seus respectivos coeficientes rho.

As correlações com $p < 0,05$ foram consideradas estatisticamente significativas.

RETE: Resistência elétrica transepitelial.

Figura 8 - Correlação entre o escore de Geboes com a resistência basal média no grupo total.



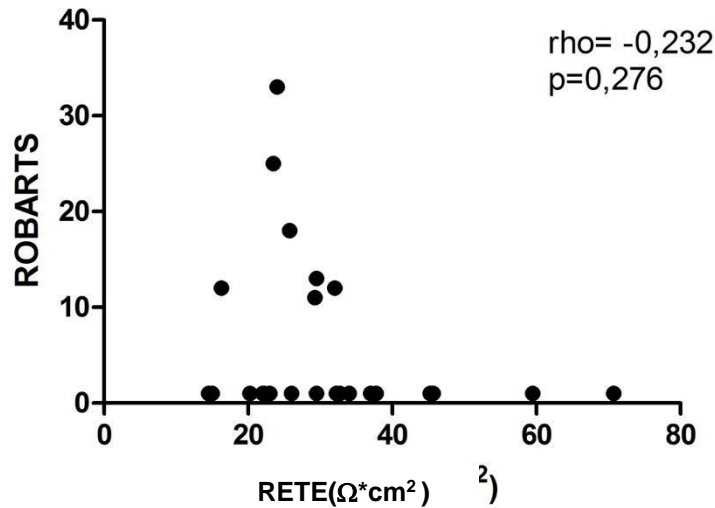
Fonte: Dados da pesquisa

Foi utilizada a correlação não paramétrica de Spearman com seus respectivos coeficientes rho.

As correlações com $p < 0,05$ foram consideradas estatisticamente significativas.

RETE: Resistência elétrica transepitelial.

Figura 9 - Correlações entre o escore de Robarts com a resistência basal média no grupo total.



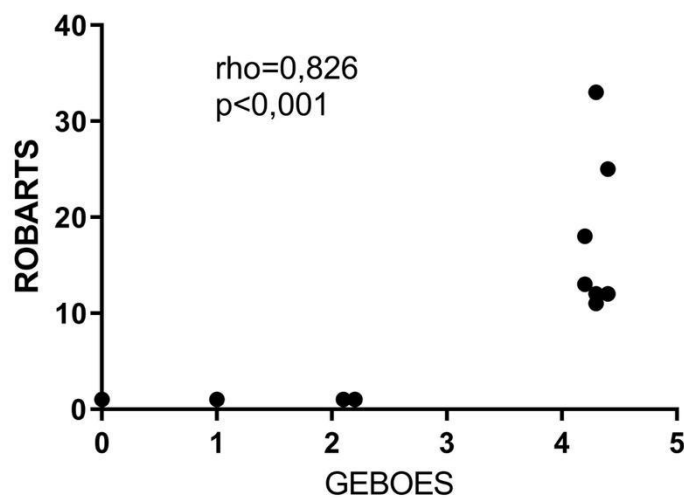
Fonte: Dados da pesquisa

Foi utilizada a correlação não paramétrica de Spearman com seus respectivos coeficientes rho.

As correlações com $p < 0,05$ foram consideradas estatisticamente significativas.

RETE: Resistência elétrica transepitelial.

Figura 10 - Correlação entre os escores de Geboes e Robarts no grupo total.



Fonte: Dados da pesquisa

Foi utilizado a correlação não paramétrica de Spearman com seus respectivos coeficientes. As correlações com $p < 0,05$ foram consideradas estatisticamente significativas.

6 DISCUSSÃO

A Retocolite ulcerativa é caracterizada por um processo inflamatório crônico da mucosa colônica e retal, marcada por uma ruptura da barreira intestinal que, por sua vez, é influenciada pela integridade da mucosa intestinal (LACERDA *et al.*, 2021; NERI *et al.*, 2021).

Esse estudo retrata a importância de vários métodos para correlacionar a integridade da mucosa e a inflamação retal, e para monitorar a atividade da doença em pacientes com RCU. Nestes, observou-se que a RETE na mucosa retal foi significativamente menor em pacientes com RCU ativa comparada ao grupo controle. Observou-se ainda uma correlação negativa entre inflamação endoscópica e inflamação microscópica, com a resistência elétrica transepitelial no reto, porém não foi observada essa correlação pelo índice de Robarts.

Foi observado pelo presente estudo que os pacientes com RCU eram mais jovens que os do grupo controle, corroborando com a literatura, que descreve que a doença tem sua maior incidência entre indivíduos de 15 e 30 anos de idade (Loftus *et al.*, 2004). No Brasil, Parente *et al.* (2015) demonstraram a predominância de RCU em pessoas com menos de 40 anos de idade, mestiças ou de baixa renda, residentes no nordeste brasileiro. Em estudo com paciente portadores de RCU, no nordeste brasileiro, com faixa etária semelhante, foi observado que a maioria residia em área urbana, eram do sexo feminino com média de idade de 39,4 anos (DA SILVA *et al.*, 2015). O grupo controle foi composto por pacientes em triagem para câncer de cólon retal (CRC), por isso, estavam numa faixa etária mais elevada, pois um dos fatores de riscos para câncer de cólon retal (CRC) é idade igual ou superior a 50 anos (BAILEY *et al.*, 2015; EDWARDS *et al.*, 2010).

Com relação aos pacientes com RCU do presente estudo, foi observado que o tempo médio da manifestação da doença, a partir do diagnóstico, foi de nove anos. A classificação da doença, considerando a sua extensão, comprometeu na sua maioria a região retal, e a medicação mais utilizado foi a mesalazina. De acordo com a literatura, a mesalazina é um dos medicamentos mais utilizados no tratamento da RCU e seu uso está relacionado com altas taxas de remissão endoscópica (DAL BUONO *et al.*, 2020).

Os pacientes com RCU podem ter um curso variável da doença. O objetivo final do tratamento na RCU é manter a saúde, a qualidade de vida e evitar a incapacidade. Para tal, é importante fornecer alívio rápido dos sintomas clínicos, mas outra meta importante, principalmente em relação à melhora dos resultados a longo prazo, é alcançar a cura endoscópica (LEUNG *et al.*, 2017; THEEDE *et al.*, 2015). Pacientes com cicatrização

endoscópica apresentam melhores resultados a longo prazo, com menor risco de colectomia e melhor evolução da doença (COLOMBEL *et al.*, 2011).

Com o objetivo de avaliar as alterações macroscópicas e microscópicas nos pacientes com RCU, foram avaliadas as biópsias dos pacientes de acordo com os critérios de Mayo, Geboes e Robarts, respectivamente, e comparados o grupo com RCU e controle. Os pacientes com RCU apresentaram índice endoscópico de Mayo e índices histológicos de Geboes e Robarts significativamente maiores em comparação com o grupo controle. Não existe um padrão ouro para o diagnóstico da doença (MAGRO *et al.*, 2017). Estudos mostram que os índices inflamatórios endoscópicos e histológicos são significativamente maiores em pacientes com RCU na fase ativa, quando em comparação com achados inflamatórios na doença inativa (MOSLI *et al.*, 2017b).

De acordo com Riley e colaboradores (1991), a lesão da mucosa na RCU ativa é caracterizada por: infiltrado de células inflamatórias crônicas, neutrófilos no epitélio, abcesso de cripta, depleção de mucina e ulcerações na superfície. Além disso, são características marcantes da atividade histológica: presença de neutrófilos na lâmina própria e no epitélio, criptite e abcesso de cripta (VESPA *et al.*, 2022). Em consenso com a literatura, foi observado em nosso estudo que o grupo RCU apresentou mais alterações histológicas, como a presença de atividade inflamatória, aumento de plasmócitos basais, aumento de neutrófilos na lâmina própria, aumento de neutrófilos no epitélio e mais lesão epitelial em relação ao grupo controle. Portanto, anormalidades microscópicas são comuns em biópsias retais em RCU (RIELY, 1991). Uma provável explicação para o maior número de alterações no grupo RCU se deve ao fato da resposta inflamatória frente à inflamação desencadear resposta imediata e adaptativa como a migração dos neutrófilos para o epitélio e aumento da plasmocitose (RIBEIRO *et al.*, 2016).

A câmara de Ussing é uma poderosa ferramenta de estudo para avaliar a integridade da função de barreira em uma variedade de tecidos epiteliais como esôfago (SILVA, 2020), laringe (SALES *et al.*, 2020), intestino (DA COSTA *et al.*, 2020) entre outros por meio do registro da RETE (ABDULNOUR-NAKHOUL, 2020; ÜSSING; ZERAHN, 1951). Nesse sentido, um dos epitélios mais estudados é o intestino (CLARKE, 2009; DA COSTA *et al.*, 2020; VANHELL *et al.*, 2013).

No presente estudo, foi observada uma redução na RETE Basal, comprovando a ação deletéria da inflamação na integridade do epitélio retal. Tal efeito também foi verificado em outros estudos do nosso grupo de pesquisa (DA COSTA *et al.*, 2020). A queda da RET pode ser explicada devido ao dano da barreira do epitélio intestinal por ocasião da inflamação em pacientes com RCU (MARTINI *et al.*, 2017). Além disso, o aumento da permeabilidade da

mucosa agrava os sintomas intestinais e prejudica a cicatrização da mucosa nesses pacientes (CHANG *et al.*, 2017). Porém, ainda não está claro se esse aumento da permeabilidade é um dos determinantes da doença ou uma consequência da inflamação da mucosa (TOEDTER *et al.*, 2012). De acordo com Toedter e colaboradores (2012), alterações da barreira observadas em pacientes com RCU apresentaram aumento da expressão de TNF α associado ao aumento de expressão de claudina-2 e redução da claudina-8, componentes das TJ que estão relacionadas à diminuição da permeabilidade intestinal (ZEISSIG *et al.*, 2007).

Ao se evidenciar a redução da RET na mucosa retal, buscou-se compreender, nos dois grupos, se o dano estava associado à inflamação macroscópica através da análise da correlação entre esses escores. Assim, o presente estudo mostrou, pela primeira vez, que a RETE se correlacionou negativamente à inflamação macroscópica na RCU, confirmando que o dano epitelial intestinal cursa com a inflamação tecidual; porém, é necessário esclarecer o mecanismo pelo qual ocorre essa associação - quebra da barreira epitelial e inflamação macroscópica.

O presente estudo observou ainda que os achados histológicos de epitélio retal de pacientes com RCU, avaliado segundo os escores de Geboes, apresentaram uma correlação negativa com a integridade da mucosa. Sabe-se que a cicatrização da mucosa é considerada de suma importância no tratamento da RCU, e que evidências sugerem que, além da cicatrização macroscópica, a remissão histológica representa um potencial novo alvo no tratamento, com resultados melhores nos tratamentos da doença a longo prazo (DAL BUONO *et al.*, 2020). Estudos recentes têm sugerido também que achados endoscópicos nem sempre são consistentes com a atividade histológica, e tendem a subestimar a profundidade do dano a mucosa (KIM *et al.*, 2016), visto que a remissão histológica ocorre posteriormente à remissão endoscópica (DAL BUONO *et al.*, 2020). Além disso, vários estudos demonstram que a cicatrização histológica pode estar associada a melhores desfechos clínicos (MAZZUOLI *et al.* 2013).

VANHELL (2013) mostrou em seu estudo que pacientes com dispepsia funcional apresentam menor RETE e aumento de eosinófilos na mucosa duodenal, em comparação com o controle saudável. Estudos avaliando mucosa esofágica de modelo de esofagite de refluxo mostram a presença de células inflamatórias (linfócitos) e aumento de citocinas pro-inflamatórias (SOUZA *et al.*, 2009). Além disso, estudos com células epiteliais humanas sugeriram que o refluxo pode estimular a produção de citocinas pro-inflamatórias (estimuladas pelo TNF α), que levam a danos na mucosa, através do recrutamento de células inflamatórias (YOSHIDA *et al.*, 2006). Esses fatos sugerem que possivelmente existe uma associação entre o mecanismo inflamatório e comprometimento da mucosa epitelial.

Foi evidenciado no presente estudo que o índice de Robarts não apresentou correlação com a integridade da mucosa. Uma provável explicação para esse fato é que o índice de Robarts pode não apresentar diferença significativa, quando se comparam grupos com menos de 15 a 20 indivíduos cada (MOSLI *et al.*, 2017b). A fim de compreender o poder de diagnóstico dos escores histológicos frente a esses resultados, foi feita a correlação dos dois índices histológicos. A análise mostrou que o índice de Geboes se correlacionou significativamente com o índice de Robarts. Em estudo prospectivo, foi observado que o escore de Geboes mostrou correlação significativa com o índice de Robarts (SHAH *et al.*, 2019).

Por fim, foram consideradas, como limitação para o presente estudo, o tamanho amostral e a variabilidade dos critérios histológicos utilizados.

7 CONCLUSÃO

A partir dos resultados apresentados, e diante da discussão deles decorrente, é possível concluir que:

- a) A avaliação da RETE demonstrou que os pacientes com RCU têm menor RETE basal que os pacientes sem RCU (grupo controle);
- b) Os pacientes com RCU apresentam maior comprometimento da barreira epitelial retal, quando comparados com os pacientes saudáveis;
- c) Os pacientes com RCU apresentaram maiores danos inflamatórios macroscópicos e microscópicos;
- d) Os pacientes com RCU que apresentavam menor RETE basal evidenciavam maiores índices inflamatórios macroscópicos e microscópicos.

REFERÊNCIAS

- ABDULNOUR-NAKHOUL, S. M. Ussing chambre methods to study the esophageal epithelial barrier. *In: NAKHOUL, N. L. **Permeability Barrier Humana***, New York, NY, 2020, p.215-233.
- ANDERSON, J. M.; VAN ITALLIE, C. M. Physiology and function of the tight junction. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, New York, v. 1, p a002584, 2009.
- ARDIZZONE, S.; PORRO, G. B. Biologic therapy for inflammatory bowel disease. **Drugs**, v. 65, p. 2253-2286, 2005.
- BAILEY, C. E. *et al.* Increasing disparities in the age-related incidences of colon and rectal cancers in the United States, 1975-2010. **JAMA surgery**, Costa do Pacífico, v. 150, n. 1, p.17-22, 2015.
- BAUMGART, D. C.; CARDING, S. R. Inflammatory bowel disease: cause and immunobiology. **Lancet**, Londres, v. 369, p.1627-1640, 2007.
- BENJAMIN, J. *et al.* Glutamine and whey protein improve intestinal permeability and morphology in patients with crohn's disease: A randomized controlled trial. **Digestive Diseases and Sciences**, Nova York, v. 57, n. 4, p. 1000–1012, 2012.
- BESSISSOW, T. *et al.* Prognostic value of serologic and histologic markers on clinical relapse in ulcerative colitis patients with mucosal healing. **Am J Gastroenterol**, Nova York, v. 107, n. 11, p.1684–1692, 2012.
- BITTON, A. *et al.* Clinical, biological, and histologic parameters as predictors of relapse in ulcerative colitis. **Gastroenterology**, v. 120, n. 1, p.13–20, 2001.
- BRESSENOT, A. *et al.* Comparing histological activity indexes in UC. **Gut**, v. 64, p.1412–1418, 2015.
- BURISCH, J.; MUNKHOLM, P. Inflammatory bowel disease epidemiology. **Current opinion in gastroenterology**, v. 29, n. 4, p. 357-362, 2013.
- CLARKE, L. L. A guide to Ussing chamber studies of mouse intestine. **American journal of physiology-gastrointestinal and liver physiology**, v. 296, n. 6, p. 1151-1166, 2009.
- COLOMBEL, J. F. *et al.* Early mucosal healing with infliximab is associated with improved long term clinical outcomes in ulcerative colitis. **Gastroenterology**, v.141, n.4, p. 1194-1201, 2011.
- COLLINS, P. D. *et al.* Strategies for detecting colon and cancer and/or dysplasia in patients with inflammatory bowel disease. **Cochrane Data- base Systematic Reviews**, v. 12, n. 2, 2006.
- DAL BUONO, A. *et al.* Histological healing: should it be considered as a new outcome for ulcerative colitis?. **Expert Opinion on Biological Therapy**, v.20, n. 4, p. 407-412, 2020.

D'AMICO, F. *et al.* New drugs in the pipeline for the treatment of inflammatory bowel diseases: what is coming?. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 55, p. 141-150, 2020.

DA COSTA-FILHO, H. B. *et al.* Sa1096 Selective inhibition of cox-1, but not cox-2, decreased the colonic epithelial integrity in the tnbs-induced colitis in rats. **Gastroenterology**, v. 158, n. 6, p.S-274, 2020.

DA SILVA, B. C. *et al.* Epidemiology, demographic characteristics and prognostic predictors of ulcerative colitis. **World Journal of Gastroenterology**, v. 20, n. 28, p. 9458-9467, 2014.

DA SILVA, B. C. *et al.* The demographic and clinical characteristics of ulcerative colitis in a Northeast Brazilian population. **BioMed Research International**, 2015.

De OLIVEIRA, W. G. P. *et al.* Doença inflamatória intestinal: aspectos clínicos e diagnósticos. **Facit Business and Technology Journal**, v. 1, n. 27, p.323-338, 2021.

EDWARDS, B. K. *et al.* Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2006, featuring colorectal cancer trends and impact of interventions (risk factors, screening, and treatment) to reduce future rates. **Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society**, v. 116, n. 3, p. 544-573, 2010.

FARIA A. M., WEINER H. L. Oral tolerance: mechanisms and therapeutic applications. **Adv Immunol**, v. 73, p. 153-264, 1999.

FANNING, A. S.; ANDERSON, J. M. Zonula occludens-1 and-2 are cytosolic scaffolds that regulate the assembly of cellular junctions. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1165, p. 113-120, 2009.

FEFFERMAN, D. S.; FARRELL, R. J. Endoscopy in inflammatory bowel disease: Indications, surveillance, and use in clinical practice. **Clin Gastroenterol Hepatol**, v.3, p.11-24, 2005.

FIOCHI, C. Inflammatory Bowel Disease: Etiology and Pathogenesis. **Gastroenterology**, v. 115, p. 182-205, 1998.

FORBES, A., *et al.* ESPEN guideline: Clinical nutrition in inflammatory bowel disease. **Clinical Nutrition**, v. 36, n. 2, p. 321-347, 2017.

FÖRSTER, C. Tight junctions and the modulation of barrier function in disease. **Histochemistry and Cell Biology**, v.130, p.55-70, 2008.

FROSLIE, K. F. *et al.* Mucosal Healing in Inflammatory Bowel Disease: Results From a Norwegian Population-Based Cohort. **Gastroenterology**, v. 133, n. 2, p. 412-422, 2007.

GEBOES, K. *et al.* A reproducible grading scale for histological assessment of inflammation in ulcerative colitis. **Gut**, v. 47, p. 404-409, 2000.

HARBORD, M. *et al.* Third European Evidence-based Consensus on Diagnosis and Management of Ulcerative Colitis. Part 2: Current Management. **Journal of Crohn's & Colitis**, Amsterdam, v. 11, n. 7, p. 769-784, 2017.

HARTSOCK, A.; NELSON, W. J. Adherens and tight junctions: structure, function and connections to the actin cytoskeleton. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes**, v. 1778, p. 660-669, 2008.

HELLER, F. *et al.* Interleukin-13 is the key effector Th2 cytokine in ulcerative colitis that affects epithelial tight junctions, apoptosis, and cell restitution. **Gastroenterology**, v.129, p. 550-564, 2005.

JAUREGUI-AMEZAGA, A. *et al.* A simplified Geboes score for ulcerative colitis. **Journal of Crohn's and Colitis**, v. 11, n. 3, p. 305-313, 2017.

JENKINS, A. P. *et al.* Do non-steroidal anti-inflammatory drugs increase colonic permeability? **Gut**, v. 32, p. 66–69,1991.

KHANNA, R. *et al.* Endoscopic assessment of inflammatory bowel disease activity in clinical trials. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, v. 20, n. 4, p 727-736, 2022.

KEITA, Å. V. *et al.* Converging Goals of Treatment of Inflammatory Bowel Disease From Clinical Trials and Practice. **Gastroenterology**, v. 148, p. 37-51, 2015.

KIM, D.B. *et al.* Correlation between Histological Activity and Endoscopic, Clinical, and Serologic Activities in Patients with Ulcerative Colitis. **Gastroenterol Res Pract**, v. 5, p.1-7, 2016.

KUCHARZIK, T. *et al.* August 2019-AWMF-Registriernummer. **Zeitschrift fur Gastroenterol.**, n. 57, p. 1321-1405, 2019.

KUCHARZIK, T. *et al.* Ulcerative colitis—diagnostic and therapeutic algorithms. **Deutsches Ärzteblatt International.**, v. 117, p. 33-34, 2020.

KUNZ, C. *et al.* Oligosaccharides in human milk: structural, functional, and metabolic aspects. **Annu Rev Nutr**, v. 20, p. 699–722, 2000.

LACERDA, J. F. *et al.* Functional food components, intestinal permeability and inflammatory markers in patients with inflammatory bowel disease. **Nutrients**, v. 13, n. 2, 642, 2021.

LEE, S. H. Intestinal Permeability Regulation by Tight Junction: Implication on Inflammatory Bowel Diseases. **Intestinal Research.**, v. 13, n. 1, p. 11-18, 2015.

LEUNG, C. M. *et al.* Endoscopic and histological mucosal healing in ulcerative colitis in the first year of diagnosis: results from a population-based inception cohort from six countries in Asia. **J Crohns Colitis**, v. 1, p. 1440–1448, 2017.

LICHTENSTEIN, G. R., RUTGEERTS, P. Importance of mucosal healing in ulcerative colitis. **Inflamm Bowel Dis**, v. 16, p. 338–346, 2010.

- LEVINE, A. *et al.* Pediatric modification of the Montreal classification for inflammatory bowel disease: the Paris classification. **Inflammatory bowel diseases**, v. 17, n. 6, p. 1314-1321, 2011.
- LOFTUS, E. V. Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: Incidence, prevalence, and environmental influences. **Gastroenterology**, v.126, p. 1504-1517, 2004.
- MCGUCKIN, M. A. *et al.* Intestinal Barrier Dysfunction in Inflammatory Bowel Diseases. **Inflamm Bowel Dis.**, v. 15, p.100 –113, 2009.
- MAGRO, F. *et al.* European consensus on the histopathology of inflammatory bowel disease. **J Crohns Colitis**, v. 7, n. 10, p. 827–851, 2013.
- MAGRO, F. *et al.* Third European evidence-based consensus on diagnosis and management of ulcerative colitis. Part 1: Definitions, diagnosis, extraintestinal manifestations, pregnancy, cancer surveillance, surgery, and ileo-anal pouch disorders. **Journal of Crohn's and Colitis**, v. 11, p. 649-654, 2017.
- MAGRO, F. *et al.* ECCO Position Paper: Harmonization of the Approach to Ulcerative Colitis Histopathology. **J. Crohn's Colitis**, v. 14, p. 1503–1511, 2020.
- MARTINEZ-MEDINA, M. *et al.* Western diet induces dysbiosis with increased E coli in CEABAC10 mice, alters host barrier function favouring AIEC colonisation. **Gut**, v. 3, n. 1, p. 116-124, 2014.
- MARTIN, H.M. *et al.* Enhanced Escherichia coli adherence and invasion in Crohn's disease and colon cancer. **Gastroenterology**, v. 127, n. 1, p. 80-93, 2004.
- MARTINI, E. *et al.* Mend Your Fences: The Epithelial Barrier and its Relationship With Mucosal Immunity in Inflammatory Bowel Disease. **Cell Mol Gastroenterol Hepatol**, v. 4, p. 33–46, 2017.
- MAZZUOLI, S. *et al.* Definition and evaluation of mucosal healing in clinical practice. **Dig Liver Dis**, v. 45, p. 969-977, 2013.
- MICHIELAN, A.; D'INCÀ, R. Intestinal permeability in inflammatory bowel disease: pathogenesis, clinical evaluation, and therapy of leaky gut. **Mediators of inflammation**, , 628157, 2015.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretária de Ciências, Tecnologia, Inovação e Insumos em Saúde. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Retocolite Ulcerativa**. Brasília, 2020. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/protocolo_clinico_terapeuticas_retocolite_ulcerativa.pdf. Acesso em: 13 maio 2022.
- MOSLI, M. H. *et al.* Reproducibility of histological assessments of disease activity in UC. **Gut**, v. 64, n. 11, p. 765–773, 2015.
- MOSLI, M.H. *et al.* Histologic scoring indices for evaluation of disease activity in ulcerative colitis. **Cochrane Database Syst Rev**, v. 5, n. 5, CD011256, 2017.

- MOSLI, M.H. *et al.* Development and validation of a histological index for UC. **Gut**, 66, n. 1, p. 50-58, 2017.
- MUSUMBA, C. *et al.* Review article: cellular and molecular mechanisms of NSAID-induced peptic ulcers. **Aliment Pharmacol Ther.**, v. 30, p. 517–531, 2009.
- NERI, B. *et al.* Histological scores in inflammatory bowel disease. **J Dig Dis**, v. 22, n. 1, p. 9-22, 2021.
- NETO, P. G. L. Doenças inflamatórias intestinais retocolite ulcerativa inespecífica. *In*: NETO, P. G. L. **Nutrição Clínica**. 2020, p. 1-27. Disponível em: https://sagahcm.sagah.com.br/sagahcm/sagah_ua_dinamica/impressao_ua/14407680. Acesso em: 13 maio 2022.
- NG, S. C. *et al.* Geographical variability and environmental risk factors in inflammatory bowel disease. **Gut**, v. 62, p. 630-649, 2013.
- NG, S. C. *et al.* Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies. **The Lancet**, v. 390, n. 10114, p. 2769-2778, 2017.
- NICOLAU, L. A. D. *et al.* Cashew gum, a biopolymer, topically protects oesophageal mucosa in non erosive reflux disease: A promising translational study. **Carbohydr Polym**, v. 226, p. 115-205, 2019.
- OSHIMA, T.; MIWA, H. Gastrointestinal mucosal barrier function and diseases. **Journal of Gastroenterology**, v. 51, p. 768-778, 2016.
- PARENTE, J. M. L.; COY, C. S. R.; CAMPELO, V.; *et al.* Inflammatory bowel disease in an underdeveloped region of Northeastern Brazil. **World J Gastroenterol**, v. 21, p. 1197-1206, 2015.
- PEYRIN-BIROULET, L. *et al.* Selecting therapeutic targets in inflammatory bowel disease (STRIDE): determining therapeutic goals for treat-to-target. **Official journal of the American College of Gastroenterology| ACG**, v. 110, n. 9, p. 1324-1338, 2015.
- POWELL-TUCK, J. *et al.* Correlations between defined sigmoidoscopic appearances and Other measures of disease activity in ulcerative colitis. **Dig Dis Sci**, v. 27, p. 533–537, 1982
- RAINE, T. *et al.* ECCO guidelines on therapeutics in ulcerative colitis: medical treatment. **Journal of Crohn's and Colitis**, v. 16, n. 1, p. 2-17, 2022.
- RACINE, A. *et al.* Dietary patterns and risk of inflammatory bowel disease in Europe: results from the EPIC study. **Inflammatory bowel diseases**, v. 22, n. 2, p. 345-354, 2016.
- RIBEIRO, R. A. *et al.* Bases da resposta inflamatória do trato gastrointestinal. *In*: BRITO, G. A. C.; ORIÁ, R. B. **Sistema Digestório: Integração Básico-Clínica**. Blucher, 2016. cap. 29, p. 765-807.

- RILEY, S. A. *et al.* Microscopic activity in ulcerative colitis: what does it mean? **Gut**, v. 32, p.174–178, 1991.
- RILEY, S. A. *et al.* Microscopic activity in ulcerative colitis: what does it mean? **Gut**, v. 32, p.174-178,1991.
- RODRIGUES, F. A. P. *et al.* Fisiologia da barreira epitelial intestinal. *In*: BRITO, G. A. C. ; ORIÁ, R. B. **Sistema Digestório: Integração Básico-Clínica**. Blucher, 2016. cap. 18, p. 442-477.
- ROSENBERG, L. *et al.* Predictors of endoscopic inflammation in patients with ulcerative colitis in clinical remission. **Inflammatory bowel diseases**, v. 19, n. 4, p. 779-784,2013.
- RUTGEERTS, P. *et al.* Infliximab for induction and maintenance therapy for ulcerative colitis. **N Engl J Med**, v. 353, p. 2462–2476, 2005.
- SALES, T. M. A. L. *et al.* Polysaccharide from *Gracilaria caudata* protects the human esophageal mucosal barrier: A differential topical effect and structural dependence. **International journal of biological macromolecules**, v. 150, p. 354-361, 2020.
- SANTANA, M. *et al.* Medicinal Plants in the Treatment of Colitis: Evidence from Preclinical Studies. **Planta Med**, v. 83, p. 588-614, 2017.
- SCALLON, B. *et al.* Binding and functional comparisons of two types of tumor necrosis factor antagonists. **J Pharmacol Exp Ther**, v. 301, p. 418–426, 2002.
- SCHMITZ, H. *et al.* Altered tight junction structure contributes to the impaired epithelial barrier function in ulcerative colitis. **Gastroenterology**, v. 116, p. 301-309, 1999.
- SCHROEDER, K. W.; TREMAINE, W. J.; ILSTRUP, D. M. Coated Oral 5-Aminosalicylic Acid Therapy for Mildly to Moderately Active Ulcerative Colitis. **N Engl J Med**, v. 317, p. 1625-1629, 1987.
- SELVARATNAM, S. *et al.* Epidemiology of inflammatory bowel disease in South America: A systematic review. **World Journal of Gastroenterology**, v. 25, n. 47, p. 6866-6875, 2019.
- SHAH, J. *et al.* Relationship between Mayo endoscopic score and histological scores in ulcerative colitis: A prospective study. **JGH Open**, v. 4, n. 3, p. 382-386, 2019.
- SHIVANANDA, S. *et al.* Incidence of inflammatory bowel disease across Europe: Is there a difference between north and south? Results of the European collaborative study on inflammatory bowel disease (EC-IBD). **Gut**, v. 39, n. 5, p. 690-697,1996.
- SILVERBERG, M. S. *et al.* Toward an Integrated Clinical, Molecular and Serological Classification of Inflammatory Bowel Disease: Report of a Working Party of the 2005 Montreal World Congress of Gastroenterology Can, **J Gastroenterol**, v.19(suppl A), p.5A-36A, 2005.

SOUZA, M. H. L. P. *et al.* Trends in the occurrence (1980–1999) and clinical features of Crohn’s disease and ulcerative colitis in a university hospital in southeastern Brazil, **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 39, n. 2, p. 98–105, 2002.

TEN HOVE, T. *et al.* Infliximab treatment induces apoptosis of lamina propria T lymphocytes in Crohn’s disease. **Gut**, v. 50, p. 206–211, 2002.

THEEDE, K. *et al.* The impact of endoscopic inflammation and mucosal healing on health related quality of life in ulcerative colitis patients. **J Crohns Colitis**, v. 9, p. 625–32, 2015.
 TRAVIS, S. P.; JEWELL, D. P. Ulcerative colitis: clinical presentation and diagnosis. In: SATSANGI, J.; SUTHERLAND, L.R. **Inflammatory Bowel Diseases**, Londres. p. 169-81, 2003.

TOBEY, N. *et al.* Dilated Intercellular Spaces and Shunt Permeability in Nonerosive Acid-Damaged Esophageal Epithelium. **Am J Gastroenterol**, v. 99, p.13-22, 2004.

TOEDTER, G. *et al.* Genes associated with intestinal permeability in ulcerative colitis: changes in expression following infliximab therapy. **Inflammatory bowel diseases**, v.18, n. 8, p. 1399-1410, 2012.

TRUELOVE, S. C.; HAMBLING, M. H. Treatment of ulcerative colitis with local hydrocortisone hemisuccinate sodium; a report on a controlled therapeutic trial. **Br Med J**, v.2, n. 5104, p.1072-1077,1958.

USSING, H. H.; ZERAHN, K. Active transport of sodium as the source of electric current in the short-circuited isolated frog skin. **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 23, n. 2-3, p. 110-127, 1951.

VANHEEL, H. *et al.* Impaired duodenal mucosal integrity and low-grade inflammation in functional dyspepsia. **Gut**, v. 63, n. 2, p. 262-271, 2014.

VAN DER SLOOT, K. W. *et al.* Inflammatory bowel diseases: review of known environmental protective and risk factors involved. **Inflammatory Bowel Disease**, v. 23, p. 1499-1509, 2017.

VESPA, E. *et al.* Histological Scores in Patients with Inflammatory Bowel Diseases: The State of the Art. **Journal of Clinical Medicine**, v. 11, n. 4, p. 939, 2022.

VICTORIA, C. R.; SASSAK, L. Y.; NUNES, H. R. D. C. Incidence and prevalence rates of inflammatory bowel diseases, in midwestern of São Paulo State, Brazil. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 46, n. 1, p. 20-25, 2009.

VIDYASAGAR, S.; MACGREGOR, G. Ussing Chamber Technique to Measure Intestinal Epithelial Permeability. **Gas Physiology and Diseases**, v.1422, p. 49-61, 2016.

VIVINUS-NÉBOT, M. *et al.* Functional bowel symptoms in quiescent inflammatory bowel diseases: Role of epithelial barrier disruption and low-grade inflammation. **Gut**, v. 63, p. 744-752, 2014.

VUITTON, L. *et al.* Defining endoscopic response and remission in ulcerative colitis clinical

trials: an international consensus. **Aliment Pharmacol Ther**, v. 45, p. 801-813, 2017.

YOSHIDA, N. *et al.* Molecular mechanisms involved in interleukin-8 production by normal human oesophageal epithelial cells. **Alimentary pharmacology & therapeutics**, v.24, p. 219-226, 2006.

ZEZOS, P. *et al.* Severe eosinophilic infiltration in colonic biopsies predicts patients with ulcerative colitis not responding to medical therapy. **Colorectal Dis**, v. 16, n. 12, p. O420–O430, 2014.

ZEISSIG, S. *et al.* Changes in expression and distribution of claudin 2, 5 and 8 lead to discontinuous tight junctions and barrier dysfunction in active Crohn's disease. **Gut**, , v. 56, n. 1, 61-72, 2007.

APÊNDICE A – FORMULÁRIO DE COLETA DE DADOS**QUESTIONÁRIO DE COLETA DE DADOS**

CASO () CONTROLE ()

NOME: _____ PRONTUÁRIO: _____
 DATA: ___/___/___ IDADE: _____ SEXO: () F () M
 PROFISSÃO: _____ Peso: _____ Alt.: _____
 MUNICÍPIO DE ORIGEM: _____
 DATA DO DIAGNÓSTICO: _____
 INÍCIO DOS SINTOMAS: _____ TEMPO QUE LEVOU P/ PROCURAR O
 MÉDICO: _____ TEMPO QUE LEVOU P/ REALIZAR
 COLONOSCOPIA: _____
 TEM COLONOSCOPIA ANTERIOR? QUANDO? AONDE? RESULTADO?

 ÍNDICE DE MAYO: () 0 () 1 () 2 () 3

TRATAMENTOS ANTERIORES, DURAÇÃO E RESPOSTA AO TRATAMENTO:

Medicamentos nos últimos 30 dias	SIM	NÃO
AINEs		
Anticoncepcionais		
Antibióticos		
Corticóides		
Imunobiológicos		

TEM ALGUMA OUTRA DOENÇA? SIM() NÃO()

Qual(is)?: _____

PERDA DE PESO INVOLUNTÁRIA: SIM() NÃO()

QUANTO TEMPO : < 1 MÊS () > 1 MÊS () 2-3 MESES ()

FAZ USO DE MEDICAÇÕES? SIM() NÃO()

Qual(is)?: _____

CIRURGIA INTESTINAL PRÉVIA? SIM () NÃO ()

Qual(is)?: _____

FUMANTE? SIM () NÃO () No DE CIG/DIA: _____

CONSUME BEBIDA ALCOÓLICA: SIM () NÃO ()

HISTÓRIA DE DII NA FAMÍLIA: SIM () NÃO ()

PAI/MÃE() IRMÃOS() TIOS/SOBRINHOS/PRIMOS()

SINTOMAS:

DIARREIA SIM () NÃO()

CONSTIPAÇÃO SIM () NÃO()

- MUCO NAS FEZES SIM () NÃO()
- SANGUE NAS FEZES SIM () NÃO()
- VÔMITO SIM () NÃO()
- NÁUSEAS SIM () NÃO()
- PERDA DE PESO SIM () NÃO()
- FEBRE SIM () NÃO()

DISTÚRBIOS INTESTINAIS FUNCIONAIS

C1. Síndrome do intestino irritável

Os critérios diagnósticos devem incluir todos os itens a seguir:

1. Dor abdominal:

NÃO () SIM ()

() 1 vez ao dia nos últimos 3 meses

() mais de 1 vez ao dia nos últimos 3 meses

2. A dor melhora com a defecação?








NÃO () SIM ()

3. O início da dor está associado com mudança na frequência das evacuações?

NÃO () SIM ()

4. O início da dor está associado com mudança no formato (aparência) das fezes?

NÃO () SIM ()

()	Tipo 01 	Pedaços separados, duros como amendoim
()	Tipo 02 	Forma de salsicha, mas segmentada
()	Tipo 03 	Forma de salsicha, mas com fendas na superfície
()	Tipo 04 	Forma de salsicha ou cobra, lisa e mole
()	Tipo 05 	Pedaços moles, mas contornos nítidos
()	Tipo 06 	Pedaços aerados, contornos esgarçados
()	Tipo 07 	Aquosa, sem peças sólidas

Escala de Bristol (MARTINEZ; DE AZEVEDO, 2012)

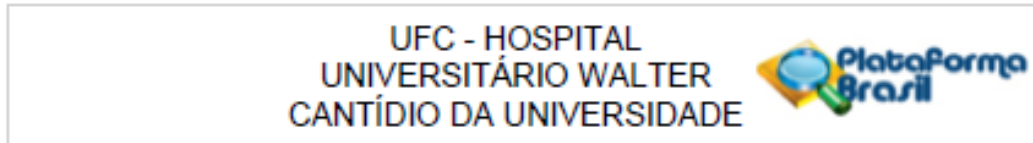
5. 2. A dor está associada com dois ou mais sintomas citados acima nos itens 2, 3 e 4?

NÃO () SIM ()

ATENÇÃO: Critérios preenchidos nos últimos 3 meses com início dos sintomas pelo menos 6 meses antes do diagnóstico.

Recomenda-se que, para uma pessoa possa participar e ser incluída nos protocolos de pesquisas de fisiopatologia e em estudos clínicos, tenha frequência de dor de ao menos 2 dias por semana durante o período de avaliação.

ANEXO A - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeito protetor de produtos naturais na barreira epitelial colônica de pacientes com retocolite ulcerativa.

Pesquisador: ANA KATIA MOURA LOPES

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 04198818.3.0000.5045

Instituição Proponente: Hospital Universitário Walter Cantídio/ Universidade Federal do

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.245.468

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto desenvolvido por ANA KATIA MOURA LOPES, nutricionista, em conjunto com o Dr. Marcellus Henrique Loliola Ponte de Souza. A Retocolite ulcerativa é uma condição inflamatória crônica que causa inflamação contínua da mucosa do cólon. Afeta o reto e uma variável extensão do cólon de forma contínua, e é caracterizada por períodos recidivantes e remitentes. O processo inflamatório recorrente é resultado da conjugação de fatores relacionados ao conteúdo do canal alimentar (antígenos bacterianos e/ou alimentares e aumento na permeabilidade intestinal a esses produtos e da alteração na resposta imunológica da mucosa, geneticamente predisposta. Estudos mostram que a ativação do sistema imune liberam mediadores inflamatórios que aumentam a permeabilidade e alteram a resistência da membrana do epitélio intestinal, além disso, as células imune da mucosa intestinal desempenham um papel importante da patogênese da retocolite ulcerativa. Assim, entender o mecanismo dessa resposta, que ocasiona a inibição desses mediadores poderia ser um adjuvante ou uma nova terapêutica no tratamento. Atualmente as terapias farmacológicas utilizadas tem efeitos adversos e também não são responsivas a alguns pacientes.

Novas

terapias como fontes naturais para potencializar ou substituir a ação dos fármacos utilizados tem sido estudados. Nesse sentido, o uso do polímero extraído do caule do cajueiro demonstrou efeito protetor e antiinflamatório da mucosa esofágica em modelo animal de refluxo gastroesofágico e em pacientes portadores de refluxo gastroesofágico não erosivo, formando um biofilme e

Endereço: Rua Capitão Francisco Pedro, 1290
Bairro: Rodolfo Teófilo **CEP:** 60.430-370
UF: CE **Município:** FORTALEZA
Telefone: (85)3366-8589 **Fax:** (85)99267-4630 **E-mail:** cephuwc@huwc.ufc.br

UFC - HOSPITAL
UNIVERSITÁRIO WALTER
CANTÍDIO DA UNIVERSIDADE



Continuação do Parecer: 3.245.468

reduzindo a permeabilidade do tecido. Assim,

o presente estudo propõe avaliar alterações da permeabilidade e resistência transepitelial de biópsias de pacientes com retocolite ulcerativa e testar o efeito da goma do cajueiro sobre esses parâmetros epiteliais.

Diante disso, a hipótese

do presente estudo é que pacientes com retocolite ulcerativa apresentem prejuízo da permeabilidade e resistência epiteliais e que produtos naturais como a goma do cajueiro desempenhem ação protetora e antiinflamatória. Para testar essa hipótese utilizaremos a câmara de Ussing em biópsias humanas da região colônica.

Serão selecionados 20 pacientes que serão divididos em 2 grupos. O primeiro grupo será formado por 10 voluntários saudáveis (sem queixas de sintomas e doença crônica e

inflamatória) e será denominado grupo controle. O segundo grupo será composto por 10 voluntários com diagnóstico de retocolite ulcerativa. Os voluntários serão selecionados no serviço de gastroenterologia do HUWC-UFC. Os pacientes serão submetidos ao

procedimento colonoscópico realizado sob sedação onde será realizado a biópsia para as análises.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

- Avaliar o comprometimento da barreira epitelial colônica em pacientes portadores de retocolite ulcerativa e o efeito protetor de produtos naturais.

Objetivo Secundário:

- Investigar os efeitos de agonistas sobre a resistência elétrica transepitelial (RETE) e permeabilidade em biópsias de pacientes com retocolite ulcerativa;
- Avaliar os efeitos de produtos naturais na proteção da barreira epitelial colônica em biópsia com pacientes com retocolite;
- Estudar por microscopia ótica e eletrônica de transmissão, as alterações nos espaços intercelulares em biópsias de pacientes com retocolite ulcerativa;
- Determinar por PCR quantitativo e western blot, a expressão claudina-1 e -4, ocludina e zônula de oclusão 1 (ZO-1) em biópsias de pacientes com RCUI.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

RISCOS:

Estes exames de colonoscopia têm um risco muito baixo de complicação como sangramento leve, distensão abdominal ou dor. Tais efeitos são raros e quando ocorrem são

minimizados pelo uso de anestésicos, que reduzem o desconforto durante o exame. As

Endereço: Rua Capitão Francisco Pedro, 1290
Bairro: Rodolfo Teófilo CEP: 60.430-370
UF: CE Município: FORTALEZA
Telefone: (85)3366-8589 Fax: (85)89267-4630 E-mail: cephuwc@huwc.ufc.br

UFC - HOSPITAL
UNIVERSITÁRIO WALTER
CANTÍDIO DA UNIVERSIDADE



Continuação do Parecer: 3.245.488

biópsias intestinais se associam a um baixo risco de sangramento não oferecendo nenhum outro desconforto adicional. Durante o exame o(a) senhor(a) será acompanhado pela equipe médica e de pesquisa. Caso aconteça algum desses riscos, o paciente será avaliado e acompanhado pelo médico. Após o exame o(a) senhor(a) ficará em observação na sala de recuperação do setor de endoscopia do HUWC. O médico responsável pelo exame avaliará o(a) senhor(a) antes e após o procedimento e se necessário, poderá intervir com algum medicamento ou procedimento. A pesquisadora acompanhará o paciente durante todo o procedimento e deixará seu contato telefônico com o mesmo ou familiares para esclarecimento de eventuais dúvidas.

BENEFÍCIOS: Existe a possibilidade de que, a partir deste estudo, ocorra o desenvolvimento de produtos naturais com efeito protetor que sirvam de tratamento para pacientes com retocolite ulcerativa. Os produtos naturais podem vir a ser utilizados como anti-inflamatórios e como terapia complementar na retocolite ulcerativa.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

pesquisa interessante, factível de ser realizada

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os seguintes documentos foram enviados:

- Carta resposta ao CEP
- Anuência do serviço
- Cronograma
- Folha de rosto
- Concordância
- Orçamento
- TCLE (dos dois grupos - contro e teste)
- Informações básicas
- Projeto

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Todas as pendências foram esclarecidas e adequadas conforme a resolução 466/2012.

Pesquisa sem óbices éticos

Considerações Finais a critério do CEP:

Apresentar relatório após o término do estudo.

Endereço: Rua Capitão Francisco Pedro, 1290
Bairro: Rodolfo Teófilo CEP: 60.430-370
UF: CE Município: FORTALEZA
Telefone: (85)3366-8589 Fax: (85)99267-4630 E-mail: cephuwc@huwc.ufc.br

**UFC - HOSPITAL
UNIVERSITÁRIO WALTER
CANTÍDIO DA UNIVERSIDADE**



Continuação do Parecer: 3.245.468

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P ROJETO_1256413.pdf	27/02/2019 20:03:24		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.pdf	27/02/2019 20:02:34	ANA KATIA MOURA LOPES	Aceito
Outros	Cartaresposta.docx	27/02/2019 19:39:49	ANA KATIA MOURA LOPES	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEstudo.pdf	27/02/2019 19:38:28	ANA KATIA MOURA LOPES	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLControl.pdf	27/02/2019 19:38:02	ANA KATIA MOURA LOPES	Aceito
Orçamento	orcamento.pdf	19/11/2018 19:09:58	ANA KATIA MOURA LOPES	Aceito
Declaração de Pesquisadores	concordancia.pdf	19/11/2018 18:59:57	ANA KATIA MOURA LOPES	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Autorizacao.pdf	19/11/2018 18:58:19	ANA KATIA MOURA LOPES	Aceito
Cronograma	Cronograma.pdf	19/11/2018 18:51:25	ANA KATIA MOURA LOPES	Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto.pdf	19/11/2018 18:44:21	ANA KATIA MOURA LOPES	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

FORTALEZA, 04 de Abril de 2019

Assinado por:
Maria de Fatima de Souza
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Capitão Francisco Pedro, 1290
 Bairro: Rodolfo Teófilo CEP: 60.430-370
 UF: CE Município: FORTALEZA
 Telefone: (85)3366-8589 Fax: (85)99267-4630 E-mail: cephuwc@huwc.ufc.br

ANEXO B – ARTIGO SUBMETIDO A PUBLICAÇÃO

Epithelial barrier impairment and inflammatory damage in ulcerative colitis

ABSTRACT

Background: Mucosal barrier dysfunction is recognized as a pathogenic factor in ulcerative colitis (UC), and it plays a prominent role in the initiation and progression of the disease. In clinical practices, colonic inflammation associated with UC can be measure by endoscopy and histopathology. The aim of the present study was to assess whether there is a relationship between the impairment of the rectum epithelial barrier and inflammatory damage in patients with UC.

Methods: We evaluated 10 patients with active ulcerative colitis (Mayo endoscopic score > 1) and 14 control subjects (submitted colonoscopy for colon cancer screening). During the colonoscopy, macroscopic inflammation was evaluated based on the Mayo endoscopic score, and biopsy samples of the rectum were removed to measure microscopic inflammation (Geboes and Robarts scores) and epithelial barrier function (transepithelial electrical resistance).

Results: The colitis group had more endoscopy and microscopic inflammatory damage as compared with the control group. The transepithelial electrical resistance in the rectum was significantly lower ($p < 0.05$) in patients with active UC when compared with the control group. There is a significantly negative ($p < 0.05$) correlation between endoscopic inflammation and microscopic damage based on the Geboes scores with transepithelial electrical resistance in the rectum.

Conclusions: There are negative correlations between mucosal integrity and inflammatory damage in patients with UC. Further studies are required to assess

whether treatment-induced mucosal tissue healing could reverse the damage to the epithelial barrier, providing a potential new therapeutic target for patients with UC.

Keywords: Mucosal integrity; Inflammation; Ulcerative colitis.

Introduction:

Ulcerative colitis (UC) is a chronic inflammatory disease that causes continuous inflammation of the colonic mucosa, affecting the rectum, and is characterized by periods of remission and recurrence.¹ The most common symptoms include diarrhea, abdominal cramps, and rectal bleeding.² UC affects both sexes in a similar way,³ being more common in late adolescence and early adulthood, with a peak incidence in those aged 50 years or above.⁴ The incidence of UC has been increasing, and is highest in Europe. Furthermore, the incidence of UC has been emerging in countries such as China, India, South Korea, Lebanon, Iran, Thailand, Antilles, and North Africa according to industrialization and westernization in these areas.⁵ In Brazil, UC affects mainly people under 40 years of age, mestizos, or those from a low-income background in northeastern Brazil.⁶

The precise etiology of UC remains unknown;⁷ its pathogenesis involves an interaction between genetic susceptibility, environmental factors, host microbiome, and immune dysregulation.⁸ Disease activity is established by clinical, endoscopic, laboratory, imaging, and histopathological parameters.^{9,10} Mucosal healing is associated with clinical remission, and mucosal barrier dysfunction is recognized as a pathogenic factor of UC and plays an important role in disease prognosis.¹¹ In this context, the indication of appropriate treatment may be influenced by the evaluation of endoscopic activity and, histological scores.^{12,13}

Different methods are used to assess macroscopic and microscopic inflammation. Being the Mayo criteria the most used to evaluate macroscopic inflammation.¹⁴ Mucosal healing is defined as the absence of friability, erosions and ulcers in all visualized segments of the intestinal mucosa.¹⁵ Regarding histology, the most used criteria for validated clinical studies are the Geboes and Robarts.^{9,16} In these microscopic parameters, changes in the architecture of the crypt, presence of cryptitis, location of neutrophils in the lamina propria and epithelium, and erosion are observed. Histological UC disease activity has been associated with recurrence, colectomy, and colorectal cancer.⁹

The integrity of the mucosa can be evaluated using the methods of permeability and transepithelial electrical resistance (TEER). Epithelial resistance acts as a model of functional assessment of mucosal integrity in the colon and other tissues. In a previous study by our research group on gastroesophageal reflux disease, we demonstrated, in both murine and humans models, using esophageal mucosa biopsies, that the epithelial barrier plays an important role in the pathogenesis of inflammation.¹⁷ Since the impairment of the colonic epithelial barrier plays an important role in the pathogenesis of UC,¹⁸⁻²⁰ it becomes important to assess the integrity of the barrier. Moreover, few studies have evaluated the relationship between mucosal integrity and clinical methods for evaluating histological and endoscopic inflammation, making available information on this topic scarce.

Therefore, this study, aimed to assess whether there is a relationship between rectal epithelial barrier damage and inflammatory damage, correlated with macroscopic and microscopic inflammation in patients with UC.

Methods:

Study population

Patients from the Digestive Endoscopy Service of the Walter Cantídio University Hospital of the Federal University of Ceará (HUWC-UFC) undergoing colonoscopy were invited to participate in the study. We selected 24 patients and divided them into two groups. The first group consisted of 14 healthy volunteers without chronic and inflammatory bowel disease, who underwent colonoscopy for colorectal cancer screening, which was called the control group. The second group, in turn, is composed of 10 volunteers diagnosed with active UC. The study was approved by the local ethics committee. All eligible and consenting patients were invited to participate in the study according to the Declaration of Helsinki.

Experimental protocol

During the colonoscopy procedure, an experienced, blinded gastroenterologist applied the Mayo endoscopic scores, which is a method used as a classification tool for UC activity. This endoscopic score ranges from zero (normal mucosa) to three (severely active UC).²¹ After classification of the score endoscopic Mayo, five rectal biopsies from each patient were taken, 1 of which was placed in a tube containing a pre-defined volume of 4% neutral buffered formalin, and was sent for histological analysis ;while the remaining 4 biopsies were transported in Krebs solution (composed of 145 mM to NaCl, 0.4 mM to KH₂PO₄, 1.6 mM de K₂HPO₄, 5 mM de glucose, 1 mM de MgCl₂ and 1.2 mM de CaCl₂, with a pH of 7.4),²² on ice, to the Gastrointestinal Physio-Pharmacology Studies Laboratory for assessment of baseline transepithelial electrical resistance (TEER) in the Üssing chamber.

Evaluation of microscopic injury scores

For each biopsy received at the pathology laboratory, a paraffin block was prepared, and a corresponding slide was stained with hematoxylin-eosin. Once prepared, the slides were analyzed by an experienced and blinded pathologist, and microscopic scores were assigned according to the degree of lesions found, with two different analyses: one following the simplified Geboes criteria¹⁶ and the other the

Robarts criteria,²³ both the criteria drew comparisons between the control and UC groups. Then, the Geboes and Robarts scores of the control group were compared with the UC group, and the correlation between the scores of these two microscopic score models was performed.

Evaluation of epithelial barrier function

After identifying the luminal and serous sides of the biopsies, with the aid of a stereoscopic magnifying glass, they were mounted in Üssing chambers (Mussler Scientific Instruments, Aachen, Germany) with an exposure area of 0.017cm². Krebs Buffer was then added (3.5 ml/half-chamber), which was kept aerated with a carbogenic mixture (95% O₂ and 5% CO₂) at a constant temperature of 37°C.²²

The TER was calculated based on the Ohm's law, according to the methodology described by Tobey *et al.* (2004).²⁴ After 30 minutes, the electrical system was stable, and it was possible to identify the baseline TEER, represented by $\Omega \times \text{cm}^2$. The mean baseline TEER of the four biopsies from each patient was considered the baseline TEER of that patient. We analyzed the baseline TER of the control group versus the UC group, and the correlation between endoscopic MAYO scores and baseline TER, as well as correlations between Geboes scores and baseline TER, and between Robarts scores and baseline TER.

Statistical analysis

The Shapiro Wilk test was performed to verify the normality of the samples. For non-parametric data, the Mann-Whitney tests were used. Spearman's test was used to verify the non-parametric correlation. To compare the categorical variables, the Chi-

square test was used. For parametric data, Student's t test was used. Data were expressed as mean \pm standard error of the mean (SEM). A p value of < 0.05 was considered significant.

Results:

In total, we enrolled 24 participants, of which, 10 were patients with UC and 14 were healthy controls. Those in the UC group were younger in comparison with controls (35 ± 7.7 versus 49.9 ± 14.7 years, $p=0.004$). The gender distribution was similar across both groups, and the UC group predominantly comprised females (90%). Moreover, the body mass index levels, smoking, and family history of inflammatory bowel disease had no statistical significance with the presence of UC.

The Mayo, Geboes, and Robarts scores were evaluated, and associated with the presence of UC. The evaluation of Mayo scores among the studied groups showed that UC groups had significantly higher Mayo scores in comparison with the control group (median = 2.5 [IQR: 2.0–3.0] vs 0 [0–0], $p<0.001$) (Figure 1).

Regarding the Geboes analysis, the UC group presented more histological changes with statistical significance for all parameters, such as the presence of inflammatory activity, increased basal plasma cells ($p=0.011$), increased neutrophils in lamina propria ($p=0.001$), increased neutrophils in epithelium ($p=0.003$), and higher prevalence of epithelial injury ($p=0.003$) in comparison with the control group (Table 1).

In the Robarts analysis as well, patients in the UC group had more frequent abnormalities, such as increased chronic inflammation infiltrate ($p=0.012$), increased neutrophils in lamina propria ($p=0.003$), increased neutrophils in epithelium ($p=0.003$)

and more erosion or ulceration ($p=0.004$), as compared with the control group (Table 2).

The same effect observed with Mayo score (Figure 1) occurred with Geboes and Roberts scores as a quantitative data, where the UC group had elevated levels of Geboes score ($4.3 [2.2 - 4.3]$ vs $0 [0 - 0]$, $p<0.001$) and Roberts score ($12 [1 - 18]$ vs $1 [1 - 1]$, $p=0.003$), in comparison with the control group (Figure 2).

Furthermore, the Roberts score had an important positive correlation with the Geboes score ($\rho= 0.826$, $p<0.001$) (Figure 3).

The UC group also had a decreased TEER than the control group (24 ± 5.6 vs $36 \pm 15 \Omega \cdot \text{cm}^2$, $p=0.010$) (Figure 4).

In the correlations analysis of total group, TEER had a significant inverse correlation with Mayo scores ($\rho= -0.487$, $p=0.016$) and with Geboes score ($\rho= -0.577$, $p=0.003$) (Figures 5 and 6A, respectively). However, no statistical significance was observed in the correlation between TEER and Roberts score ($\rho= -0.232$, $p=0.276$) (Figure 6B).

DISCUSSION

In the present study, we demonstrated the importance of different methods to evaluate the association between mucosal integrity and colonic inflammation in patients with UC. TEER in the rectal mucosa was significantly lower in patients with active UC as compared to the control group. A negative correlation was observed between endoscopic inflammation and microscopic inflammation, with TEER in the rectum; however, this correlation was not observed in the Roberts index. These evaluations are essential to monitor disease activity and define the most appropriate

treatment in UC patients, and to assess whether mucosal healing may reverse inflammatory damage.

In the present study, patients with UC were younger in comparison to the control group, corroborating with the literature, which describes the highest incidence of UC among individuals aged between 15 and 30 years.⁴ In Brazil, Parente *et al.* (2015) demonstrated the predominance of UC in individuals under 40 years of age, mestizos, or belonging to low-income backgrounds in northeastern Brazil.⁶ The control group consisted of patients undergoing screening for rectal colon cancer (RCC); therefore, the control group comprised individuals who were older because older age (≥ 50 years) is a risk factor for RCC.

Moreover, in the present study, patients with UC had significantly higher Mayo, Geboes, and Robarts histological indexes as compared to the control group. There is no gold standard consensus for the diagnosis of UC. the diagnosis is established by clinical, endoscopic, laboratory, and histopathological parameters.¹⁰ In the past, disease activity has been evaluated using symptoms and endoscopic results.²⁵ Studies showed that endoscopic and histological inflammatory indexes were significantly higher in patients with active UC as compared to inflammatory findings in inactive disease.²³ Mucosal damage in active UC patients is characterized by chronic inflammatory cell infiltrate, crypt abscess, mucin depletion, and surface ulcerations. Therefore, microscopic abnormalities are common in rectal biopsies of patients with UC.²⁶

In this present study, a decreased basal TEER was observed in UC patients, indicating the deleterious effect of inflammation on the integrity of the colonic tissue, as verified in previous studies performed by our team in animal experiments. A

decreased TEER can be explained by the fact that the intestinal epithelial barrier is easily interrupted during intestinal inflammation in UC patients.^{27,28} Furthermore, increased mucosal permeability aggravates intestinal symptoms and impairs mucosal healing in these patients. Hence, the TEER measurement may be an important tool for functional assessment of mucosal integrity.

Moreover, correlation analysis in this present study showed that TEER was inversely correlated with macroscopic inflammation in both groups. We hypothesized that inflammation can lead to greater damage to the integrity of the rectal mucosa. To our knowledge, no similar studies evaluated these associations in UC patients. Recent studies have suggested that endoscopic findings are not always consistent with histological activity and tend to underestimate the depth of mucosal damage. In addition, several studies demonstrate that histological healing may be associated with better clinical outcomes.^{11,29} On the other hand, in our study, endoscopic and histological findings had a positive correlation with the integrity of the mucosa, with an exception of the Robarts index, which correlated positively with the Geboes score, when analyzing the total group, but did not show a correlation with the integrity of the mucosa.

We consider the sample size and the variability of the histological criteria used as a limitation of this study. Larger samples may perhaps reveal other significant correlations. The Robarts index may not show a significant difference when comparing groups with less than 15 to 20 individuals each.⁹

In conclusion, a negative correlation was found between mucosal integrity and inflammatory damage in UC patients. More studies are required to assess whether treatment-induced mucosal tissue healing can reverse damage in the epithelial barrier, providing a potential novel therapeutic target in UC patients.

REFERENCES

1. Silverberg MS, Satsangi J, Ahmad T, *et al.* Toward an Integrated Clinical, Molecular and Serological Classification of Inflammatory Bowel Disease: Report of a Working Party of the 2005 Montreal World Congress of Gastroenterology *Can J Gastroenterol.* 2005;19(suppl a):5A-36A.
2. Santana M, Cercato L, Oliveira J, Camargo E. Medicinal Plants in the Treatment of Colitis: Evidence from Preclinical Studies. *Planta Med* 2017;83:588-614.
3. Fefferman DS, Farrell RJ. Endoscopy in inflammatory bowel disease: Indications, surveillance, and use in clinical practice. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2005;3:11-24.
4. Loftus E V. Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: Incidence, prevalence, and environmental influences. *Gastroenterology* 2004;126: 1504-1517.
5. Ng SC, Bernstein CN, Vatn MH, *et al.* Geographical variability and environmental risk factors in inflammatory bowel disease. *Gut* 2013;62: 630-649.(4).
6. Parente JML, Coy CSR, Campelo V, *et al.* Inflammatory bowel disease in an underdeveloped region of Northeastern Brazil. *World J Gastroenterol* 2015;21: 1197-1206.
7. Shivananda S, Lennard-Jones J, Logan R, *et al.* Incidence of inflammatory bowel disease across Europe: Is there a difference between north and south? Results of the European collaborative study on inflammatory bowel disease (EC-IBD). *Gut* 1996;39: 690-697.
8. Baumgart DC, Carding SR. Inflammatory bowel disease: cause and

- immunobiology. *Lancet* 2007;369: 1627-1640.
9. Mosli MH, Parker CE, Nelson SA, *et al.* Histologic scoring indices for evaluation of disease activity in ulcerative colitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2017; 5:CD011256.
 10. Magro F, Gionchetti P, Eliakim R, *et al.* Third European evidence-based consensus on diagnosis and management of ulcerative colitis. Part 1: Definitions, diagnosis, extra-intestinal manifestations, pregnancy, cancer surveillance, surgery, and ileo-anal pouch disorders. *J Crohn's Colitis* 2017;11: 649-670.
 11. Mazzuoli S, Guglielmi FW, Antonelli E, Salemme M, Bassotti G, Villanacci V. Definition and evaluation of mucosal healing in clinical practice. *Dig Liver Dis* 2013;45: 969-977.
 12. Neri B, Mossa M, Scucchi L, Sena G, Palmieri G, Biancone L. Histological scores in inflammatory bowel disease. *J Dig Dis* 2021;22: 9-22.
 13. Shah J, Dutta U, Das A, *et al.* Relationship between Mayo endoscopic score and histological scores in ulcerative colitis: A prospective study. *JGH Open* 2020;4: 382-386.
 14. Khanna R, Ma C, Jairath V, Vande Casteele N, Zou G, Feagan BG. Endoscopic Assessment of Inflammatory Bowel Disease Activity in Clinical Trials. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2022;20: 727-736.e2.
 15. Vuitton L, Peyrin-Biroulet L, Colombel JF, *et al.* Defining endoscopic response and remission in ulcerative colitis clinical trials: an international consensus. *Aliment Pharmacol Ther* 2017;45: 801-813.
 16. Jauregui-Amezaga A, Geerits A, Das Y, *et al.* A Simplified Geboes Score for Ulcerative Colitis. *J Crohns Colitis* 2017;11: 305-313.

17. Nicolau LAD, S Batista-Lima FJ, Santana AP *et al.* Cashew gum, a biopolymer, topically protects oesophageal mucosa in non erosive reflux disease : A promising translational study. *Carbohydr Polym* 2019;226: 115-205.
18. Heller F, Florian P, Bojarski C, *et al.* Interleukin-13 is the key effector Th2 cytokine in ulcerative colitis that affects epithelial tight junctions, apoptosis, and cell restitution. *Gastroenterology* 2005;129: 550-564.
19. Schmitz H, Barmeyer C, Fromm M, *et al.* Altered tight junction structure contributes to the impaired epithelial barrier function in ulcerative colitis. *Gastroenterology* 1999;116: 301-309.
20. Vivinus-Nébot M, Frin-Mathy G, Bziouche H, *et al.* Functional bowel symptoms in quiescent inflammatory bowel diseases: Role of epithelial barrier disruption and low-grade inflammation. *Gut* 2014;63: 744-752.
21. Schroeder KW, Tremaine WJ, Ilstrup DM. Coated Oral 5-Aminosalicylic Acid Therapy for Mildly to Moderately Active Ulcerative Colitis. *N Engl J Med.* 1987;317:1625-1629.
22. Keita Å V, Lindqvist CM, Öst Å, Magana CDL, Schoultz I, Halfvarson J. Gut Barrier Dysfunction—A Primary Defect in Twins with Crohn’s Disease Predominantly Caused by Genetic Predisposition. *J Crohn’s Colitis* 2018; 12: 1200-1209.
23. Mosli MH, Feagan BG, Zou G, *et al.* Development and validation of a histological index for UC. *Gut* 2017;66: 50-58.
24. Tobey N, Hosseini S, Argote C, Dobrucali A, Awayda M, Orlando R. Dilated Intercellular Spaces and Shunt Permeability in Nonerosive Acid-Damaged Esophageal Epithelium. *Am J Gastroenterol* 2004;99: 13-22.
25. Levesque BG, Sandborn WJ, Ruel J, Feagan BG, Sands BE, Colombel J-F.

- Converging Goals of Treatment of Inflammatory Bowel Disease From Clinical Trials and Practice. *Gastroenterology* 2015;148:37-51.e1.
26. Riley SA, Mani V, Goodman MJ, Dutt S, Herd ME. Microscopic activity in ulcerative colitis: what does it mean? *Gut* 1991;32:174-178.
 27. da Costa HB, Sales TM, Paula SM, *et al.* Sa1096 SELECTIVE INHIBITION OF COX-1, BUT NOT COX-2, DECREASED THE COLONIC EPITHELIAL INTEGRITY IN THE TNBS-INDUCED COLITIS IN RATS. *Gastroenterology* 2020;158:S-274.
 28. Martin HM, Campbell BJ, Hart CA, *et al.* Enhanced Escherichia coli adherence and invasion in Crohn's disease and colon cancer 1 1The authors thank Professor T. K. Korhonen (Division of General Microbiology, University of Helsinki, Finland), who kindly donated Escherichia coli IH11165; Professor. *Gastroenterology* 2004;127:80-93.
 29. Kim DB, Lee K-M, Lee JM, *et al.* Correlation between Histological Activity and Endoscopic, Clinical, and Serologic Activities in Patients with Ulcerative Colitis. *Gastroenterol Res Pract* 2016;2016:1-7.

Figure Legends

Figure 1. Comparison of the Mayo scores between the control group and the ulcerative colitis group. Bars represent the median and interquartile ranges. The Mann-Whitney U test was performed for obtaining p values.

UC: ulcerative colitis.

Figure 2. Comparison of the Geboes (A) and Robarts (B) scores between the control group and the ulcerative colitis group. Individual values are presented with the median and interquartile ranges. The Mann-Whitney U test was performed for obtaining p-values. UC, ulcerative colitis.

Figure 3. Correlation analysis between the Robarts and Geboes score in the total group. Spearman's nonparametric correlation with their respective rho coefficients was performed for statistical analysis. Correlations with $p < 0.05$ were considered statistically significant.

Figure 4. Comparison of the mean basal resistance between the controls and ulcerative colitis group. Results are expressed as mean \pm SEM and were analyzed by Student's t test. $*p < 0.05$.

TEER, Transepithelial electrical resistance; UC, ulcerative colitis.

Figure 5. Correlations between the Mayo score with mean baseline resistance in the total group. Spearman's nonparametric correlation with their respective rho coefficients was performed. Correlations with $p < 0.05$ were considered statistically significant.

TEER, Transepithelial electrical resistance.

Figure 6. Correlations between Geboes (A) and Robarts (B) score with mean baseline resistance in the total group. Spearman's nonparametric correlation with their respective rho coefficients was used. Correlations with $p < 0.05$ were considered statistically significant. TEER: Transepithelial electrical resistance

Table 1. Comparison of abnormalities in the Geboes analysis between the control and ulcerative colitis groups

Geboes analysis	Groups		p*
	Control (n=14)	UC (n=10)	
No inflammatory activity			0.001
<i>No abnormalities</i>	14 (100)	2 (20)	
<i>Presence of architectural changes</i>	0 (0)	2 (20)	
<i>Presence of architectural changes and chronic mononuclear cell infiltrate</i>	0 (0)	6 (60)	
Basal plasma cells			0.011
<i>No increase</i>	14 (100)	5 (50)	
<i>Mild increase</i>	0 (0)	3 (30)	
<i>Marked increase</i>	0 (0)	2 (20)	
Eosinophils in lamina propria			0.001
<i>No increase</i>	14 (100)	0 (0)	
<i>Mild increase</i>	0 (0)	9 (90)	
<i>Marked increase</i>	0 (0)	1 (10)	
Neutrophils in lamina propria			0.001
<i>No increase</i>	14 (100)	3 (30)	
<i>Mild increase</i>	0 (0)	6 (60)	
<i>Marked increase</i>	0 (0)	1 (10)	
Neutrophils in epithelium			0.003
<i>None</i>	14 (100)	3 (30)	
<i>< 50% crypts involved</i>	0 (0)	6 (60)	
<i>> 50% crypts involved</i>	0 (0)	1 (10)	
Epithelial injury (in crypt and surface epithelium)			0.003
<i>None</i>	14 (100)	3 (30)	
<i>Probable crypt destruction: probable erosions</i>	0 (0)	2 (20)	
<i>Unequivocal crypt destruction: unequivocal erosion</i>	0 (0)	3 (30)	
<i>Ulcer or granulation tissue</i>	0 (0)	2 (20)	

Data expressed as absolute counts and percentages in parentheses.

*The Chi-square test was used. UC: ulcerative colitis.

Table 2. Comparison of abnormalities in the Robarts analysis between the control and ulcerative colitis groups

Robarts analysis	Groups		p*
	Control (n=14)	UC (n=10)	
Chronic inflammatory infiltrate			0.012
<i>Mild but unequivocal increase</i>	14 (100)	5 (50)	
<i>Moderate increase</i>	0 (0)	3 (30)	
<i>Marked increase</i>	0 (0)	2 (20)	
Neutrophils in lamina propria			0.003
<i>None</i>	14 (100)	3 (30)	
<i>Mild but unequivocal increase</i>	0 (0)	3 (30)	
<i>Moderate increase</i>	0 (0)	3 (30)	
<i>Marked increase</i>	0 (0)	1 (10)	
Neutrophils in epithelium			0.003
<i>None</i>	14 (100)	3 (30)	
<i>< 5% crypts involved</i>	0 (0)	4 (40)	
<i>< 50% crypts involved</i>	0 (0)	1 (10)	
<i>>50% crypts involved</i>	0 (0)	2 (20)	
Erosion or ulceration			0.004
<i>No erosion, ulceration or granulation tissue</i>	14 (100)	4 (40)	
<i>Recovering epithelium+adjacente inflammation</i>	0 (0)	4 (40)	
<i>Ulcer or granulation tissue</i>	0 (0)	2 (20)	

Data expressed as absolute counts and percentages in parentheses.

*The Chi-square test was used. UC: ulcerative colitis.

FIGURA 03

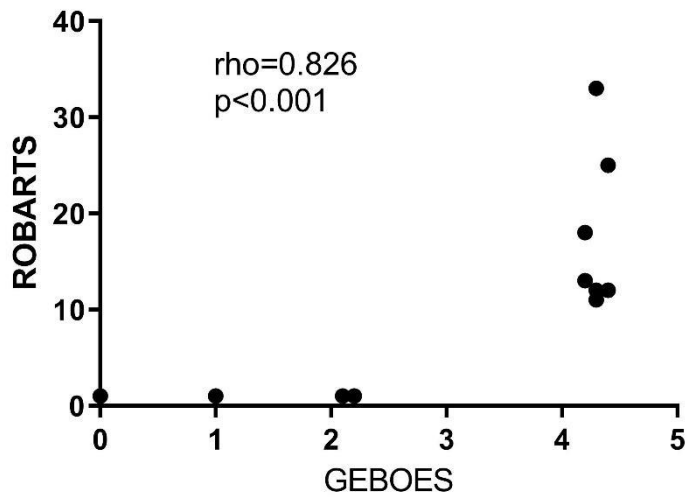
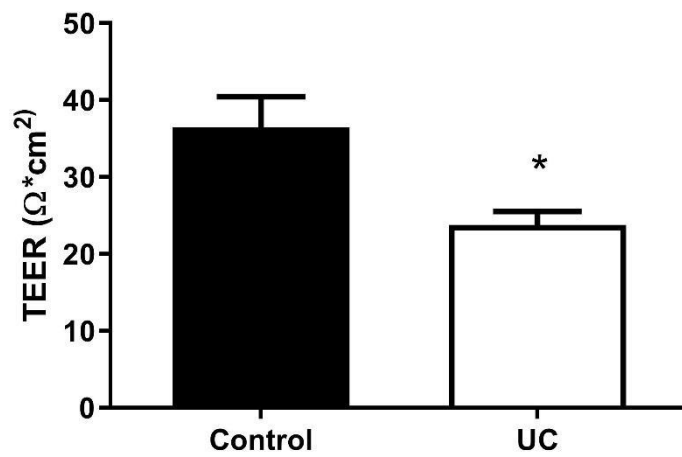


FIGURA 04



ANEXO C – REGRAS DA REVISTA PARA SUBMISSÃO DO ARTIGO

INTESTINAL RESEARCH

Enacted: March 1, 2003
Last revised: January 10, 2021

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Intestinal Research (Intest Res) is the official journal of Asian Organization for Crohn's and Colitis (AOCC) and the joint publication of Chinese Society of IBD (CSIBD), Japanese Society for IBD (JSIBD), Korean Association for the Study of Intestinal Diseases (KASID), Taiwan Society of IBD (TSIBD) and Colitis and Crohn's Foundation (India) (CCE; India).

The aim of the journal is to provide broad and in-depth analysis of small and large intestinal diseases, especially inflammatory bowel disease, and to serve as an important medium for the dissemination of state-of-the-art articles on those diseases in the Asia-Pacific region and beyond. In particular, we are interested in studies that highlight the characteristics of inflammatory bowel disease especially in the Asian population.

As a journal specialized in clinical and translational research in the lower gastroenterology field, it encompasses multiple aspects of diseases originated from the small and large intestines. The journal also seeks to propagate and exchange useful innovations, both in ideas and in practice, within the research community. As a mode of scholarly communication, it encourages scientific investigation through the rigorous peer-review system and constitutes a qualified and continual platform for sharing studies of researchers and practitioners. Specifically, the journal presents up-to-date coverage of medical researches on the physiology, epidemiology, pathophysiology, clinical presentations, and therapeutic interventions of the small and large intestinal diseases. General topics of interest include inflammatory bowel disease, colon and small intestine cancer or polyp, endoscopy, irritable bowel syndrome and other motility disorders, infectious enterocolitis, intestinal tuberculosis, rare small bowel diseases, and so forth.

Manuscripts submitted to *Intestinal Research* should be prepared according to the following instructions. *Intestinal Research* follows the Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing, and Publication of Scholarly Work in Medical Journals (<http://www.icmje.org/icmje-recommendations.pdf>) from the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE).

- RESEARCH AND PUBLICATION ETHICS
- COPYRIGHTS, LICENSE, DATA SHARING, AND DEPOSIT POLICY
- MANUSCRIPT PREPARATION
- SUBMISSION AND PEER-REVIEW PROCESS
- FINAL PREPARATION FOR PUBLICATION
- ARTICLE PROCESSING CHARGES

RESEARCH AND PUBLICATION ETHICS

The journal adheres to the guidelines and best practices published by professional organizations, including ICMJE Recommendations and the Principles of Transparency and Best Practice in Scholarly Publishing (joint statement by the Committee on Publication Ethics, COPE; the Directory of Open Access Journals; the World Association of Medical Editors; and Open Access Scholarly Publishers Association; <https://doaj.org/best-practice>). Furthermore, the full process of handling research and publication misconduct should follow the COPE flowchart (<https://publicationethics.org/resources/flowcharts>).

1. Research Ethics

The manuscripts with following misconduct or dishonest act cannot be published either online or in journals.

- **Forgery (Fabrication):** Record or reporting with making up data or research results that do not exist.
- **Alteration (Falsification):** Manipulate research data, equipment, processes, or results intentionally to distort research contents or results.
- **Plagiarism:** Using others' ideas, research process, contents, and/or results without proper authorization or citation.

2. Originality and Duplicate Publication

Redundant or duplicate publication refers to the publication of a paper that overlaps substantially with one already published. Upon receipt, submitted manuscripts are screened for

possible plagiarism or duplicate publication using Crossref Similarity Check. If a paper that might be regarded as duplicate or redundant had already been published in another journal or submitted for publication, the author should notify the fact in advance at the time of submission. Under these conditions, any such work should be referred to and referenced in the new paper. The new manuscript should be submitted together with copies of the duplicate or redundant material to the editorial committee. If redundant or duplicate publication is attempted or occurs without such notification, the submitted manuscript will be rejected immediately. If the editor was not aware of the violations and of the fact that the article had already been published, the editor will announce in the journal that the submitted manuscript had already been published in a duplicate or redundant manner, without seeking the author's explanation or approval.

- Secondary Publication: It is possible to republish manuscripts if the manuscripts satisfy the conditions for secondary publication of the ICMJE Recommendations (<http://www.icmje.org/icmje-recommendations.pdf>).

3. Authorship and Author's Responsibility

Authorship credit should be based on (1) substantial contributions to conception and design, acquisition of data, and/or analysis and interpretation of data; (2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content; (3) final approval of the version to be published; and (4) agreement to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved. Every author should meet all of these 4 conditions. After the initial submission of a manuscript, any changes whatsoever in authorship (adding author(s), deleting author(s), or re-arranging the order of authors) must be explained by a letter to the editor from the authors concerned. This letter must be signed by all authors of the paper. Copyright assignment must also be completed by every author.

- Correction of authorship after publication: *Intestinal Research* does not correct authorship after publication unless a mistake has been made by the editorial staff. Authorship may be changed before publication but after submission when an authorship correction is requested by all of the authors involved with the manuscript.
- Corresponding author and first author: *Intestinal Research* allows co-first authors or co-corresponding authors if corresponding author believes that their roles are equally con-

tributed.

- Author's contribution should be stated according to CRediT (<https://casrai.org/credit/>) standard. Person who made genuine contributions, yet not active and sufficient enough to be co-authors should be stated on Acknowledgments.

4. Statement of Human and Animal Rights

- When reporting experiments on human subjects, the manuscript must include a statement of acquirement of informed consent after indicate all possible physical and psychological damages on subjects and/or their guardians before the experiment is conducted, in accordance with the World Medical Association Declaration of Helsinki (<http://www.wma.net>).
- In case of clinical research including clinical trial, the manuscript must include a statement of approval from Institutional Review Board (IRB) or ethic committee (revised June 2009) and status of informed consent (revised October 2017).
- In case of clinical trial, we recommend register the clinical trial in public registry site that matches the criteria established by ICMJE or WHO to ensure scientific objectivity and transparency of study procedure (revised June 2010).
- Author must have obtained informed consent from identifiable patient, if author plan to include any personal information including photo, image, illustration and video. Any information that could have revealed patient's and research subjects' identities, such as name, initials, ethnicity, occupation or date of birth, should not appear as much as possible. Formal consents are waived for the use of entirely anonymized image from which the individual cannot be identified (revised October 2017).
- When reporting experiments on animals, authors should describe the measures they have taken to ease pains and inconvenience to the subjects, and a statement identifying whether the NIH Guide for the Care and Use of Laboratory Animals or Institutional Guide for the Care and Use of Laboratory Animals was followed. When necessary, Editorial Board asks for approval letter issued by Institutional Animal Care and Use Committee or Animal Ethics Committee.

5. Conflict of Interest

The author is responsible for disclosing any financial support or benefit that might affect the content of the manuscript or might cause a conflict of interest. When submitting the manuscript, the author must attach the letter of conflict of interest

statement. Examples of potential conflicts of interest are financial support from or connections to companies, political pressure from interest groups, and academically related issues. In particular, all sources of funding applicable to the study should be explicitly stated.

6. Management Procedures for the Research and Publication Misconduct

When the journal faces suspected cases of research and publication misconduct such as duplicate publication, plagiarism, fraudulent or fabricated data, changes in authorship, undisclosed conflict of interest, ethical problem with a submitted manuscript, a reviewer who has appropriated an author's idea or data, complaints against editors, and etc., the resolving process will follow the flowchart provided by the COPE (<https://publicationethics.org/resources/flowcharts>). The discussion and decision on the suspected cases are done by the editorial board.

7. Corrections of Errors (revised August 2018)

Intestinal Research will publish corrections as soon as possible detailing changes from and citing the original publication when errors are detected. We follow the ICMJE and COPE guidelines where applicable. An erratum refers to a production error, caused by the journal. A corrigendum refers to an error made by the authors. Authors who notice an error should contact the editorial office of the journal.

8. Editorial Responsibilities

The editorial board will continuously work for monitoring/safeguarding publication ethics: guidelines for retracting articles; maintenance of the integrity of the academic record; preclusion of business needs from compromising intellectual and ethical standard; publishing corrections, clarifications, retractions and apologies when needed; no plagiarism, no fraudulent data. The editorial board checks manuscripts to confirm the originality of the text through Similarity Check. If the value of similarity index is unexpectedly high, it will be screened more precisely on plagiarism or duplicate publication. Editors are always keeping the following responsibilities: responsibility and authority to reject/accept article; no conflict of interest with respect to articles they reject/accept; acceptance of a paper only when reasonably certain; promotion of correction or retraction publication when errors are found; preservation of anonymity of the reviewers.

COPYRIGHTS, LICENSE, DATA SHARING, AND DEPOSIT POLICY

1. Copyright

All published papers become the permanent property of the Korean Association for the Study of Intestinal Diseases (KASID). Copyrights of all published materials are owned by the KASID. Permission must be obtained from the KASID for any commercial use of materials. Every author should sign and submit the copyright transfer agreement forms.

2. License

This is an open-access journal distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial license, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited for non-commercial purpose. All contents of the journal are available immediately upon publication without embargo period.

3. Data Sharing

The Journal encourages data sharing wherever possible, unless this is prevented by ethical, privacy, or confidentiality matters. Authors wishing to do so may deposit their data in a publicly accessible repository and include a link to the DOI within the text of the manuscript.

- Clinical Trials: *Intestinal Research* accepts the ICMJE Recommendations for data sharing statement policy. Authors may refer to the editorial, "Data Sharing Statements for Clinical Trials: A Requirement of the International Committee of Medical Journal Editors," in the Journal of Korean Medical Science (<https://doi.org/10.3346/jkms.2017.32.7.1051>).

4. Archiving Policy

The full text of *Intestinal Research* has been archived in PubMed Central (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/2608/>), National Library of Korea (<https://www.nl.go.kr/>) from the first issue of Volume 12, 2014. According to the deposit policy (self-archiving policy) of Sherpa/Romeo (<http://www.sherpa.ac.uk/>), authors cannot archive pre-print (i.e., pre-refereeing), but they can archive post-print (i.e., final draft post-refereeing). Authors can archive publisher's version/PDF. *Intestinal Research* provides the electronic backup and preservation of access to the journal content in the event the journal is no longer published by archiving in PubMed Central and National Library of Korea.

MANUSCRIPT PREPARATION

1. General Principles

- MS Word (.doc) should be used for manuscripts. The manuscripts must be written with double-spacing and 3 cm margins on A4 sized format.
- The pages of manuscripts must be numbered consecutively, beginning on the abstract and located at the center of the footer.
- Manuscripts should be written in English. Medical terminology should be followed by the recent terminology book. For abbreviations, authors can refer to the “Common Abbreviations and Acronyms” provided by the journal. Other abbreviations, which are not listed on it, must be defined at the first mention in the text using parentheses. Abbreviations should be used in case that they appear in the text at least 3 times. Do not use abbreviation(s) in the title. It is helpful if a separate list is provided of any abbreviations.
- When the use of reagents or devices is reported in the text, the name of manufacturer, city, state, and country should be indicated.
- The use of the International System of Units (SI) is encouraged.
- The text of original articles is organized in the following order: title page, abstract, introduction, methods, results, discussion, acknowledgments, references, figure legends, and tables.

2. Adherence to Reporting Guidelines

For specific study designs, such as randomized control studies, studies of diagnostic accuracy, meta-analyses, observational studies, and nonrandomized studies, authors are encouraged to also consult the reporting guidelines relevant to their specific research design. A good source of reporting guidelines is the EQUATOR Network (<https://www.equator-network.org/>) and the NLM (https://www.nlm.nih.gov/services/research_report_guide.html).

3. Title Page

- Basic information: The title page should have the following information in order. Article title, authors (affiliation, name), shortened title, contact information for corresponding authors (name, mailing address, telephone and fax numbers, and e-mail address of the author responsible for correspondence regarding the manuscript). A short running title should be provided if the article title is longer than 12

words. When authors have multiple affiliations, list the affiliation where most of the research was conducted. Other affiliations should follow the major affiliation with superscripts on each of them. The superscripts (only Arabic numerals) should refer to the co-authors belonging to the various affiliations as the first author.

- Additional information: In addition to basic information, information that requires disclosure should be mentioned here. This will be included at the end of the published article.

1) **Funding source:** Authors must declare all financial, if relevant, any editorial assistance received to support the underlying research project and/or the preparation of the article for submission.

2) **Conflict of interest:** The author is responsible for disclosing any financial support or benefit that might affect the content of the manuscript or might cause a conflict of interest. Examples of potential conflicts of interest are financial support from or connections to companies, political pressure from interest groups, and academically related issues.

3) **Author contribution:** What authors have done for the study should be described in this section. *Intestinal Research* participates in the CRediT standard for author contributions. The contributions of all authors must be described using the CRediT Taxonomy of author roles. For each of the categories in the example below, please enter the initials of the authors who contributed to that category. If listing more than 1 author in a category, separate each set of initials with a space. If no one contributed in a category, you may leave that box blank. The corresponding author is responsible for completing this information at submission, and it is expected that all authors will have reviewed, discussed, and agreed to their individual contributions ahead of this time.

An example:

Conceptualization: AB. Methodology: AB, CD, EFG. Formal analysis: EFG. Funding acquisition: AB. Project administration: AB. Visualization: CD, EFG. Writing-original draft: CD, EFG. Writing-review and editing: AB, CD, EFG. Approval of final manuscript: all authors.

4) **ORCID:** We recommend that the open researcher and contributor ID (ORCID) of all authors be provided. To have an ORCID, authors should register in the ORCID website (<http://orcid.org/>). Registration is free to every

researcher in the world.

- 5) *Non-author contributors*: A brief acknowledgment of persons who made a genuine contribution, yet not active and sufficient enough to be co-authors.

4. Abstract and Keywords

- Abstracts for original articles must be 200–250 words and should be divided with the headings: Background/Aims, Methods, Results, Conclusions. Case reports and reviews should be an unstructured paragraph, and it must be 150–200 words. No references should be cited in the abstract.
- Keywords: A list of keywords (3–5 words) should be provided below the abstract. Each keyword should start with a capitalized letter, and be separated by a semicolon. Use of terms from the medical subject headings (MeSH) list of National Library of Medicine is recommended (<http://www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.html>).

5. Main Text

1) *Original Articles*

All original manuscripts must include the following:

- Introduction: Provide a context or background for the study, which must be explicitly related to the aims of the study. The introduction should not contain either results or conclusions.
- Methods: Describe the plan of research, characteristics of subjects, and the length and methods of observation in as much details as possible. Statistical methods used should be outlined. Indicate that the study has received the permission from the ethical committee for experiments on human subjects, and from the animal experiments committee for experiments on animals. Description of participants follows the ICMJE recommendations - Ensure correct use of the terms sex (when reporting biological factors) and gender (identity, psychosocial or cultural factors), and, unless inappropriate, report the sex and/or gender of study participants, the sex of animals or cells, and describe the methods used to determine sex and gender. If the study was done involving an exclusive population, for example in only one sex, authors should justify why, except in obvious cases (e.g., prostate cancer). Authors should define how they determined race or ethnicity and justify their relevance.
- Results: Results should be presented in logical sequence in the text. Tables and illustrations and repetitive presentation of the same data in different forms should be avoided.

The results should not include material appropriate to the discussion. All data in the text must be presented consistently.

- Discussion: Discussion should explain results in relation to any hypotheses advanced in the introduction. This may include an evaluation of the methodology and of the relationship of new information to the existing corpus of knowledge in that field. Emphasize the new and important aspects of the study and the conclusions that follow from them in the context of the aim of the study.

2) *Case Reports*

General rules for original articles apply to other types of manuscripts as well. The format should include introduction, case report, and discussion which are similar to that of an original article. The abstract must be 150–200 words and list keywords of 3–5 words. Describe briefly the case and other issues that are only directly related to the case. Avoid an exhaustive literature review, but provide a focused discussion on the aspects of interest that the reported case brings in. List no more than 20 references.

3) *Reviews*

Review articles, focused on specific topics of research, are submitted only if requested by the editorial board. The format and structure of review articles follow those of original articles, but authors can change them freely, if necessary. An abstract must be included in 150–200 words.

4) *Letters to the Editor or Brief Communication*

The journal welcomes readers' comments on articles published recently in the journal or topics of interest. Letters to the editor or brief communication will be the rapid publication of new findings of unique importance in clinical settings that lead to the new direction of a short and concise communication. It could be organized in the following sequence: the title, main text (not divided into separate section), references, tables, and figures. Abstract is not required. The number of tables and figures in total should not exceed 3. References should not exceed 10.

5) *Editorial*

Editorials express opinions on current topics of interest or provide comments on papers published elsewhere in the same issue. Editorials are usually solicited by the editor. Tables and/or figures may be included. References should not exceed 10.

6) *Perspective, Statement or Commentary*

Perspective or Commentary present a viewpoint on an important area of research. Perspective focus on a specific field or subfield within a larger discipline and discuss current advances and future directions. Perspective or commentary is written only at the invitation of the Editorial Board. The formatting requirements for Perspectives or Commentary are similar to those for Letters to the Editor. Statements are welcome on any topic. They can be overview statements, comments about surveys, and evidence-based or eminence-based consensus recommendations. They should contain a tight linear argument and be more than just a mini-review. The format and structure of Statements follow those of Review Articles.

7) *Images of the Issue*

General rules for case reports apply to images as well. This section presents unusual or classic, challenging or informative images. The format should include title page, question with short case description, answers, references and images. Discussion should include important features of the images, differential diagnosis, and clinical significance. Number of references should be less than 5. Up to 4 figures of high quality are accepted.

8) *Corrigenda and Errata*

6. References

References should be numbered consecutively as a superscript in the order in which they are first mentioned in the text, and listed at the end of the manuscript. The names of all authors should be cited up to 6 authors; in case there are more than 6 authors, the first 3 authors should be cited, followed by the expression "et al." The journals should be abbreviated according to the style used in the list of journals indexed in the NLM Journal Catalog (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals>). Abstracts are not accepted as a reference. Other types of references not described below should follow ICMJE Recommendations (https://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html). Please refer to the following examples.

• Journal articles

1. Kim KO, Chiorean MV. Advanced neoplasia detection using chromoendoscopy and white light colonoscopy for surveillance in patients with inflammatory bowel disease. *Intest Res* 2020;18:438-446.
2. Sood A, Ahuja V, Midha V, et al. Colitis and Crohn's Founda-

tion (India) consensus statements on use of 5-aminosalicylic acid in inflammatory bowel disease. *Intest Res* 2020;18:355-378.

3. Parsonnet J. Helicobacter pylori: the size of the problem. *Gut* 1998;43(Suppl 1):S6-S9.
4. Min JK, Yang HJ, Kwak MS, et al. Deep neural network-based prediction of the risk of advanced colorectal neoplasia. *Gut Liver* 2020 Dec 20 [Epub]. <https://doi.org/10.5009/gnl19334>.

• Books

5. Day RA. How to write and publish a scientific paper. 3rd ed. Phoenix: Oryx, 1988.
6. Costa M, Furness JB, Llewellyn-Smith IJ. Histo-chemistry of the enteric nervous system. In: Johnson LR, ed. *Physiology of the gastrointestinal tract*. Volume 1. 2nd ed. New York: Raven, 1987:1-40.

• Websites

7. American Cancer Society. Facts about cancer pain [Internet]. c2020 [cited 2020 Dec 20]. <https://www.cancer.org/treatment/treatments-and-side-effects/physical-side-effects/pain/facts-about-cancer-pain.html>.

7. Table

Each table must be simple and typed on a separate page. All tables should be numbered consecutively in the order in which they are first mentioned in the text. Each table should have a clear and self-explanatory title (a form of clause or phrase is encouraged) without a period. Capitalize the first letter of nouns and adjectives. Vertical rules and horizontal rules between entries should be omitted. If abbreviations are used, provide with a note showing the original terms at the bottom of the table. For footnotes, use the following symbols, in sequence: a, b, c, d, e, f, g, h, i...

8. Figure legends

Figure legends should be typed double-spaced on a separate sheet. Provide with a subtitle and explanation for the figure in English as brief as 1 paragraph. When presenting a microphotograph, indicate stain methods and level of magnification.

9. Figure

Only high-resolution figure files (minimum 300 dpi) should be submitted, preferably in JPEG, GIF or TIF format. Each figure should be submitted in a separate single file. Figures should be numbered consecutively in the order in which they are first

mentioned in the text. Symbols, arrows, and letters should be used to indicate parts of illustrations. If a figure has been published previously, acknowledge the original source and submit written permission from the copyright holder to reproduce the figure. The authors should state at the bottom of the figure that they received the permission. All types of figures may be reduced, enlarged, or trimmed for publication by the editor.

SUBMISSION AND PEER-REVIEW PROCESS

1. Online Submission System

All manuscripts must be submitted through the online submission system of the journal (<http://www.irjournal.org/submission>). If you have any questions, please contact the Editorial Office.

Intestinal Research Editorial Office

Address: Room 305, Lotte Gold Rose II, 31 Seolleung-ro 86-gil, Gangnam-gu, Seoul 06193, Korea
Tel: +82-2-957-6145, Fax: +82-2-957-6146
E-mail: thekasid@gmail.com

2. Peer Review

- All papers, including those invited by the Editor, are subject to peer review. A manuscript is first reviewed for its format and adherence to the aims and scope of the journal. If the manuscript does not fit the aims and scope of the Journal or does not adhere to the Instructions for Authors, it may be returned to the author immediately after receipt and without a review. Before reviewing, all submitted manuscripts are inspected by Similarity Check powered by iThenticate (<https://www.crossref.org/services/similarity-check/>), a plagiarism-screening tool.
- The journal uses a double-blind peer-review process: the reviewers do not know the identity of the authors, and vice versa. All manuscripts undergo peer review by at least 3 reviewers with relevant expertise who are selected by the editorial board. If the data need professional statistical review by a statistician, statistical editing is performed.
- The editorial board has the right to revise and edit the styles and structures of submitted manuscripts within the context if necessary. Once the decision on publication as an accept, revision or reject is made, it is directly notified to the corresponding author. After the final draft of manuscripts are proven to be appropriate according to the publication policies and styles of the journal, the decision of

publication is finalized and expected publication date will be given. Rejected manuscripts are not to be considered again.

- The decision to publish will be made by the editorial board of the journal after the peer review. IR's average turnaround time from submission to decision is 4–8 weeks. The editor is responsible for the final decision whether the manuscript is accepted or rejected.
- Appeals of decisions: Any appeal against an editorial decision must be made within 2 weeks of the date of the decision letter. Authors who wish to appeal a decision should contact the Editor-in-Chief, explaining in detail the reasons for the appeal. All appeals will be discussed with at least one other associate editor. If consensus cannot be reached thereby, an appeal will be discussed at a full editorial meeting. The process of handling complaints and appeals follows the guidelines of COPE available from (<https://publicationethics.org/appeals>). *Intestinal Research* does not consider second appeals.

3. Copyright Transfer Agreement

Upon the submission of manuscripts, all authors must sign and submit the "Copyright Transfer Agreement Form," and it is not permitted to change the first or corresponding author, or to add or remove co-author(s) once the manuscript is submitted. The Copyright Transfer Agreement Form must be submitted through the online submission system of the journal (<http://www.irjournal.org/submission>).

4. Ethical Policies Checklists

Upon the submission of manuscripts, corresponding author must check and sign the "Ethical policies checklists." This form must be submitted through the online submission system of the journal (<http://www.irjournal.org/submission>).

5. Manuscripts Checklists

Before the submission, the authors are advised to check the "Author's checklist" (<http://www.irjournal.org/authors/checklist.php>) for the correct composition. The editorial board may return the submitted manuscripts if they are not correctly composed according to the "checklist" for technical reasons. Authors should revise their manuscripts according to the regulations before resubmission.

6. Submission by Editors

Final decisions regarding manuscript publication are made by

the editor-in-chief or a designated editor who does not have any relevant conflicts of interest. In the event that an editor has a conflict of interest with a submitted manuscript or with the authors, the manuscript will be handled by one of the other editors who does not have a conflict with the review and who is not at the same institution as the submitting editor. In such circumstances, full masking of the process will be ensured so that the anonymity of the peer reviewers is maintained.

FINAL PREPARATION FOR PUBLICATION

1. Final Version

After the paper has been accepted for publication, the author(s) should submit the final version of the manuscript. The names and affiliations of the authors should be double-checked, and if the originally submitted image files were of poor resolution, higher resolution image files should be submitted at this time. Symbols (e.g., circles, triangles, squares), letters (e.g., words, abbreviations), and numbers should be large enough to be legible on reduction to the journal's column widths. All symbols must be defined in the figure caption. If references, tables, or figures are moved, added, or deleted during the revision process, renumber them to reflect such changes so that all tables, references, and figures are cited in numeric order.

2. Manuscript Corrections

Before publication, the manuscript editor will correct the manuscript such that it meets the standard publication format. The

author(s) must respond within 2 days when the manuscript editor contacts the corresponding author for revisions. If the response is delayed, the manuscript's publication may be postponed to the next issue.

3. Gallery Proof

The author(s) will receive the final version of the manuscript as a PDF file. Upon receipt, the author(s) must notify the editorial office (or printing office) of any errors found in the file within 2 days. Any errors found after this time are the responsibility of the author(s) and will have to be corrected as an erratum.

4. Errata and Corrigenda

To correct errors in published articles, the corresponding author should contact the journal's Editorial Office with a detailed description of the proposed correction. Corrections that profoundly affect the interpretation or conclusions of the article will be reviewed by the editors.

ARTICLE PROCESSING CHARGES

There is no article processing charge or submission-related fees to author-side until there is a policy change.

NOTICE: These recently revised instructions for authors will be applied beginning with the January 2021 issue.