

UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE – UNESC
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

KARLA GOMES SIFRONI

PAPEL DA DISFUNÇÃO MITOCONDRIAL NA FISIOPATOLOGIA DA
COLITE ULCERATIVA

CRICIÚMA, DEZEMBRO DE 2009

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

KARLA GOMES SIFRONI

**PAPEL DA DISFUNÇÃO MITOCONDRIAL NA FISIOPATOLOGIA DA
COLITE ULCERATIVA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências da
Saúde para obtenção do título de Mestre em
Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Emílio Luiz Streck

CRICIÚMA, DEZEMBRO DE 2009

Dedico este trabalho aos meus pais, Ronei e Dircéia, pelo amor incondicional e generosidade.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por guiar meus passos e confortar meu coração nos momentos mais difíceis.

Aos meus pais pelos valores, incentivo, apoio, força e encorajamento. A minha mãe e amiga, sempre pronta a me escutar. Ao meu pai por proporcionar meu ingresso aos estudos e esforçar-se para efetivar meu valor. Vocês são o tesouro mais valioso que tenho!

Ao meu amor Rangel, pelo carinho e dedicação. Sempre presente, longe ou perto, nos momentos difíceis, sem cobrar minha ausência. Você é o meu porto seguro!

Aos meus irmãos Renan e Renato, pelo amor, amizade e bons momentos. Com vocês aprendi a não dar bola para as dificuldades.

Ao meu orientador, Prof^o Emílio, pela oportunidade de ter sido sua orientanda, por compartilhar seu conhecimento, pela competência e respeito com que conduziu este processo, do alvorecer da idéia até a sua síntese.

Ao meu amigo e colega de mestrado Saulo, por tornar esta caminhada mais prazerosa. Obrigado pelas boas risadas e companheirismo. Você é muito especial!

Ao Pedro e a Madalena por me acolherem quando precisei. Vocês são adoráveis!

Ao colega Carlos Roberto Damiani que gentilmente participou desta pesquisa.

Aos colegas do laboratório, especialmente a Gislaine e Giselli, pelo suporte durante o desenvolvimento deste trabalho. Sem vocês este trabalho certamente não teria sido realizado.

Aos colegas de mestrado pelo companheirismo, convívio, aprendizado e dedicação.

A antiga colega de trabalho Andréa de Araújo Martins Mello por contribuir para a realização deste sonho.

Aos familiares, amigos e todos aqueles que estiveram enviando apoio e energia positiva, além da paciência em entender e aceitar tantos momentos ausentes.

A mente que se abre a uma nova idéia jamais voltará ao seu tamanho original.

Albert Einstein

RESUMO

Colite ulcerativa é uma doença inflamatória crônica do extenso intestino. Sua patogênese permanece incerta, mas ela parece resultar de uma desregulada resposta imune, com infiltração de leucócitos na mucosa intersticial. Vários estudos associaram estresse oxidativo e disfunção mitocondrial com a patogênese da colite ulcerativa. Deste modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar as atividades dos complexos da cadeia respiratória mitocondrial da mucosa colônica de pacientes com colite ulcerativa. Biopsias colônicas foram obtidas de pacientes com colite ulcerativa (n=13). Os espécimes controles foram tomados de pacientes sem qualquer história de doença inflamatória intestinal (n=8). Mucosas colônicas foram removidas e homogeneizadas. Atividades dos complexos da cadeia respiratória mitocondrial foram então mensurados. Os resultados mostraram que a atividade do complexo I não estava alterada em pacientes com colite ulcerativa, quando comparada com grupo controle. Por outro lado, complexos II, III, e IV estavam diminuídos cerca de 50-60% na mucosa colônica de pacientes com colite ulcerativa. Baseado nos presentes achados sugere-se que a disfunção mitocondrial pode desempenhar um importante papel na patogênese da colite ulcerativa.

Palavras-chave: colite ulcerativa; mitocôndria; cadeia respiratória; metabolismo energético.

ABSTRACT

Ulcerative colitis is a chronic inflammatory disease of the large bowel. Its pathogenesis remains unclear, but it appears to result from a deregulated immune response, with infiltration of leukocytes into the mucosal interstitium. Several studies link oxidative stress and mitochondrial dysfunction to the pathogenesis of ulcerative colitis. Thus, the aim of this work was to evaluate the activities of mitochondrial respiratory chain complexes in the colonic mucosal of ulcerative colitis patients. Colonic biopsies were obtained from ulcerative colitis patients (n=13). The control specimens were taken from patients without any history of inflammatory bowel disease (n=8). Colon mucosal was removed by colonoscopy and homogenized. Mitochondrial respiratory chain complexes activities were then measured. Our results showed that the activity of complex I was not altered in ulcerative colitis patients, when compared to the control group. On the other hand, complexes II, III and IV were decreased around 50-60% in the colonic mucosal of ulcerative colitis patients. Based on the present findings, we hypothesize that mitochondrial dysfunction may play a role in pathogenesis of ulcerative colitis.

Key words: ulcerative colitis; mitochondria; respiratory chain; energy metabolism.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Esquema ilustrativo da Cadeia Respiratória Mitocondrial.0

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-ASA – ácido 5-aminosalicílico
6-MP – 6-mercaptopurina
Acetil-CoA – acetil coenzima A
ADP – Adenosina difosfato
ATP – Adenosina trifosfato
AZA – azatioprina
CAT – catalase
CO₂ – monóxido de carbono
CoQ – coenzima Q
DNA – ácido desoxirribonucléico
DSS – dextran sulfato de sódio
eNOS – óxido nítrico sintase endotelial
FADH₂ – flavina adenina dinucleotídeo
GPX – glutationa peroxidase
H₂O₂⁻ - peróxido de hidrogênio
IFN-γ – interferon gama
IgA – imunoglobulina A
IL – interleucina
iNOS – óxido nítrico sintase indutível
L-NAME – nitro arginina metil-éster
NADH – nicotinamida adenina dinucleotídeo
NF-κβ – fator nuclear kappa beta
NK – natural killer
nNOS – óxido nítrico sintase neuronal
NO – oxido nítrico
O₂⁻ - superóxido
OCL – hipoclorito
ONOO⁻ - peróxinitrito
PG – prostaglandina
PUFAS – ácidos graxos polinsaturados
SOD – superóxido dismutase

SSZ – sulfasalazina

TGF- β – fator transformador de crescimento beta

Th1 – célula T helper 1

Th2 – célula T helper 2

TNBS – ácido sulfônico 2,4,6-trinitrobenzeno

TNF- α – fator de necrose tumoral alfa

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
1.1. CONCEITOS FUNDAMENTAIS	12
1.2. EPIDEMIOLOGIA	13
1.3. APRESENTAÇÃO CLÍNICA	16
1.4. ASPECTOS MACRO E MICROSCÓPICOS	17
1.5. FISIOPATOLOGIA	18
1.6. TRATAMENTO	26
1.7. METABOLISMO ENERGÉTICO	28
2. OBJETIVOS	31
OBJETIVO GERAL	31
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	31
3. RESULTADOS	33
4. DISCUSSÃO	52
5. REFERÊNCIAS	56

1. INTRODUÇÃO

1.1 CONCEITOS FUNDAMENTAIS

As doenças inflamatórias do trato digestório acometem uma parcela significativa da população mundial e têm merecido maior atenção nas últimas décadas, pois, de forma generalizada podem desencadear desconforto, quadros de depressão e até a invalidez do indivíduo (Schottenfeld & Beebe-Dimmer, 2006; Varghese et al., 2006; Baumgart & Carding, 2007). Os principais locais do sistema digestório envolvidos com doenças inflamatórias são o esôfago, estômago e o intestino, principalmente o cólon.

As doenças conhecidas como doenças inflamatórias intestinais, na sua conceituação mais ampla, correspondem a qualquer processo inflamatório envolvendo o trato gastrointestinal, seja ele agudo ou crônico, englobando várias condições inflamatórias, mais significativamente a colite ulcerativa e a doença de Crohn (Damião & Sipahi, 2000; Head & Jurenka, 2003). A colite ulcerativa está restrita ao cólon, enquanto que a doença de Crohn pode afetar o trato gastrointestinal da boca até o ânus (Aamodt et al., 2008). Ambas são espontaneamente recidivantes e caracterizadas por apresentarem dor abdominal, diarreia e lesão da mucosa (Shkoda et al., 2007; Theiss et al., 2007).

A colite ulcerativa tipicamente envolve somente o revestimento mais íntimo da mucosa, manifestando como áreas contínuas de inflamação e ulceração, sem segmentos de tecido normal. Doenças envolvendo somente a parte mais distal do cólon e do reto são chamadas proctites ulcerativas; doenças do cólon descendente

para baixo é chamado limitado ou colite distal; e doença que envolve o cólon inteiro é chamada pancolite (Head & Jurenka, 2003)

A atual teoria etiológica desta desordem idiopática implica na presença de desencadeadores ambientais incluindo fatores microbianos entéricos em hospedeiros geneticamente susceptíveis. Estudos clínicos mostraram uma aumentada associação de bactéria entérica luminal com o epitélio intestinal, uma aumentada permeabilidade intestinal e a perda da tolerância imunológica incluindo resposta hiper-reativa de células T em pacientes com doença inflamatória intestinal (Shkoda et al., 2007). Aumentada produção de radicais livres e/ou enfraquecida capacidade de defesa antioxidante tem sido demonstrada em modelo animal e humano de doença inflamatória intestinal, indicando uma contribuição central por espécies reativas de oxigênio, liberada por células epiteliais e neutrófilos no início, progressão e consequências patológicas da doença. Níveis aumentados de espécies reativas de oxigênio estão associados com o rompimento da função da barreira da mucosa das células epiteliais intestinais, por causar um aumento da permeabilidade e uma diminuição da cicatrização da ferida. Uma desequilibrada resposta antioxidante na mucosa de pacientes com doença inflamatório intestinal pode contribuir para a patogênese e progressão do processo inflamatório, e a utilização da terapia antioxidante melhora a colite ulcerativa em múltiplos modelos experimentais (Theiss et al., 2007).

1.2 EPIDEMIOLOGIA

Quanto à localização geográfica, a doença de Crohn e a colite ulcerativa apresentam-se como doenças gastrointestinais de países desenvolvidos. Elas são

mais prevalente no hemisfério Norte, e as maiores taxas de incidência são observadas em Manitoba, Canadá; aproximadamente 20 por 100,000 para ambas doenças. As taxas de incidência da colite ulcerativa parecem ter diminuído nas regiões nortes, entretanto a incidência da doença de Crohn permanece crescendo (Aamodt et al., 2008).

A etiologia da doença é desconhecida, mas estudos familiares mostram que a doença pode se agrupar em famílias. Se um paciente desenvolver doença inflamatória intestinal, o risco de que um parente em primeiro grau seja acometido durante a vida é de cerca de 10%. Se ambos os genitores tiverem doença inflamatória intestinal, cada criança apresenta uma chance de 36% de ser acometida. Em estudos com gêmeos, 20% dos gêmeos monozigotos são concordantes para colite ulcerativa e a concordância para os dizigotos não existe (Friedman & Blumberg, 2001). Além disso, a doença tem sido mostrada estar relacionada a fatores socioeconômicos, higiene e exposição a microorganismos. O papel exato de cada fator está inconclusivo. Vários estudos indicam uma variada distribuição geográfica dentro dos países (Aamodt et al., 2008).

Estudos populacionais sobre a prevalência das doenças inflamatórias intestinais sugerem que aproximadamente um em duzentos e cinquenta europeus, está ou poderá ser afetado durante a vida (Shivananda et al., 1996; Bouma & Strober, 2003). No entanto, novos estudos indicam que a epidemiologia da doença inflamatória intestinal está em ascensão em áreas consideradas de baixa incidência, enquanto que em outras como o oeste da Europa e a América do norte tem-se observado uma aparente estabilização no número de casos (Lakatos, 2006; Baumgart & Carding, 2007).

As taxas de incidência de colite ulcerativa nos EUA são de aproximadamente 11 por 100000 habitantes, enquanto países do sul da Europa, da África do Sul e da Austrália registram taxas de incidência mais baixas: 2 a 6,3 por 100000 habitantes. Na Ásia e na América do Sul a taxa de incidência é de 0,5 por 100000 habitantes (Friedman & Blumberg, 2001). No Brasil, ainda, desconhecemos a real incidência das doenças inflamatórias intestinais, mas ela é certamente maior nas regiões sul e sudeste (Damião & Sipahi, 2000).

A colite ulcerativa afeta ambos os sexos e ocorre em todas as idades, com um pico de ocorrência entre a segunda e quarta década, e um segundo pico de ocorrência na sexta década de vida (Mazier, 1995; Corman, 2005; Damiani, 2006).

A doença inflamatória intestinal é mais comum entre os brancos do que entre os negros e os de raça amarela. Do ponto de vista étnico, é mais freqüente entre os judeus, particularmente os de origem européia. Apresenta uma incidência maior nas populações urbanas, quando comparadas as rurais, possivelmente relacionada à maior exposição a agentes infecciosos e tende a ocorrer mais entre indivíduos com nível sócio econômico mais elevado (Damião & Sipahi, 2000).

Os efeitos do tabagismo são diferentes nas doenças inflamatórias intestinais. O risco de colite ulcerativa em fumantes é de 40% comparados aos não fumantes. Além disso, ex-fumantes apresentam um risco aumentado de 1,7 em relação aos não fumantes (Friedman & Blumberg, 2001).

Os antiinflamatórios não esteroidais podem desencadear doenças inflamatórias intestinais ou induzir recaídas nos pacientes já diagnosticados. Sua ação lesiva sobre a mucosa do trato gastrointestinal e a capacidade de aumentar a permeabilidade intestinal tornam esse grupo de fármacos perigoso (Damião & Sipahi, 2000).

O aleitamento materno reduz o risco de desenvolvimento de colite ulcerativa de acordo com os trabalhos de Koletzco. Os efeitos imunomoduladores da IgA materna sobre a mucosa intestinal da criança podem justificar tal proteção. (Damião & Sipahi, 2000)

1.3 APRESENTAÇÃO CLÍNICA

Colite ulcerativa pode ser insidioso, com início gradual de sintomas, ou o primeiro ataque pode ser agudo e fulminante. A apresentação clínica da doença é composta de ataques intermitentes de sangramento retal, diarreia, eliminação de muco, dor abdominal e emagrecimento (Itzkowitz & Yio, 2004). Como a doença progride de moderado para mais severa, o paciente também pode experimentar além da perda de peso, vômitos, fadiga, perda de apetite que pode resultar em deficiências nutricionais, hemorragia retal severa, febre, e anemia (Head & Jurenka, 2003).

Segmento Sintomas	Colite Ulcerativa	Doença de Cronh
Área do trato intestinal afetado	Alguma parte da camada mais íntima do cólon, constante com nenhuma mancha de tecido normal	Mais comum abaixo do íleo, mas pode reaparecer mais acima em algum lugar, incluindo o cólon; "manchas" de tecido normal entre áreas afetadas; pode afetar toda parede intestinal
Diarreia	Tipicamente quatro episódios por dia	Tipicamente quatro episódios por dia
Dor abdominal / cólicas	Levemente dolorido/ leve cólica abdominal	Moderado a severa. Abdômen dolorido no quadrante direito inferior
Sangue nas fezes	Presente; quantia depende de severidade de doença	Presente; quantia depende de severidade de doença.

Fadiga	Resultante de perda de sangue excessiva e anemia	Resultante de perda de sangue excessiva, anemia, e pobre absorção de nutriente
Febre	Baixo-grau em casos severos	Baixo-grau em casos severos.
Exame físico	Exame retal pode mostrar irritação peri-anal, fissuras, hemorróidas, fistulas, e abscessos.	Irritação Peritoneal, massa abdominal ou pélvica.
Perda de peso /anorexia	Perda de peso em casos mais severos.	Perda de peso e anorexia comum devido à pobre digestão e absorção intestinal.
Apetite	Freqüentemente diminuído durante períodos de exacerbação de doença.	Freqüentemente diminuído durante períodos de exacerbação de doença
Risco de câncer de cólon	Aumentado	Aumentado

Fonte: Head & Jurenka, 2003

1.4 ASPECTOS MACRO E MICROSCÓPICOS

A colite ulcerativa é uma doença da mucosa que geralmente compromete o reto e se estende proximalmente para comprometer todo o cólon ou parte dele (Friedman & Blumberg, 2001). Na fase inicial, a mucosa é hiperêmica, granular e friável, sangra com facilidade, contém menor quantidade de muco e pode apresentar pontos hemorrágicos, muitos dos quais se tornam purulentos e formam pequenas ulcerações. Há, ainda, minúsculos abscessos nas criptas e redução do número de células caliciformes, que são substituídas por células mais imaturas. Sucessivamente, o epitélio das criptas degenera e os microabscessos coalescem, formando ulcerações. Na maioria das vezes, encontra-se inflamação inespecífica na mucosa e submucosa, raramente aprofundando até a muscular e/ou serosa, podendo formar abscessos pericólicos. As úlceras têm tamanhos variados, as

maiores resultam da confluência das menores e as adjacentes podem formar túneis recobertos por pontes de mucosa não destruída. Nos períodos de remissão ou quando há cura, ocorre regeneração do epitélio e surge tecido de granulação nas úlceras e fibrose na lâmina própria e muscular da mucosa (Brasileiro Filho, 2000). Na doença de longa duração, podem estar presentes pólipos inflamatórios (pseudopólipos) em consequência da regeneração epitelial. A mucosa pode parecer normal na remissão, mas em pacientes com muitos anos de doença ela parece atrófica e descaracterizada, e todo o cólon torna-se estreitado e encurtado. Pacientes com colite fulminante podem desenvolver uma colite tóxica ou megacólon tóxico, em que a parede intestinal está muito fina e a mucosa gravemente ulcerada, podendo ocorrer a perfuração (Friedman & Blumberg, 2001).

1.5 FISIOPATOLOGIA

A recente teoria em relação ao desenvolvimento da doença de Crohn e da colite ulcerativa é a desregulada e inapropriada resposta imune da flora intestinal normal em indivíduos predispostos geneticamente. Em particular, presume-se que receptores toll-like, que são importantes protegendo a barreira epitelial intestinal em indivíduos saudáveis, estimulam diversas respostas inflamatórias em indivíduos afetados (Aamodt et al., 2008).

Dentro do processo fisiopatológico da colite ulcerativa, sabe-se que a diarreia sanguinolenta é consequência da destruição tecidual resultante da infiltração leucocitária na mucosa colônica e superprodução de mediadores pró-inflamatórios, como citocinas e metabólitos do ácido araquidônico (Lobos et al., 1987; Pravda,

2005; Sartor, 1991; Volwinkel et al., 2004; Yavuz et al., 1999). No entanto, a etiologia da doença ainda não está completamente esclarecida.

Algumas hipóteses postulam que a doença inflamatória intestinal é uma doença multifatorial. Os fatores que estariam envolvidos compreenderiam: respostas imunes inapropriadas da mucosa intestinal envolvendo antígenos provenientes da flora bacteriana comensal, susceptibilidade genética, alterações relevantes na composição da flora bacteriana (inclusão de patógenos até então não identificados), deficiência no sistema imune inato, defeitos na camada epitelial intestinal, apresentação anormal de antígenos intraluminais por células apresentadoras de antígenos, desregulação das respostas de células mononucleares da lâmina própria, exposição exacerbada a mediadores pró-inflamatórios e exposição ambiental inadequada (Podolsky, 2002; Bouma & Strober, 2003; Bamias & Cominelli, 2007; Baumgart & Carding, 2007).

A colite ulcerativa apresenta forte associação com o antígeno leucocitário humano, existindo uma forte associação do HLA-DR2 e HLA-DRB1*15. (Damião & Sipahi, 2000). Outras associações com os genes imunorreguladores incluem o alelo R241 da molécula de aderência intercelular e o alelo 2 antagonista do receptor da interleucina (IL)1 em pacientes com colite ulcerativa que está associada a inflamação colônica total (Friedman & Blumberg, 2001).

Em 1996, os ingleses identificaram loci de susceptibilidades para a colite ulcerativa e doença de Crohn nos cromossomos 3, 7 e 12. E especificamente para a colite ulcerativa foi reconhecida no cromossomo 12 uma região denominada de IBD2. Além disso, familiares de pacientes com colite ulcerativa apresentam uma frequência aumentada de anticorpos séricos tipo anticorpos contra estruturas citoplasmáticas do neutrófilo (ANCA) (Damião & Sipahi, 2000).

O estado normal do sistema imune da mucosa é tal que as respostas imunes mostram-se inibidas ao conteúdo da luz devido à tolerância oral que ocorre em indivíduos normais. Múltiplos mecanismos estão envolvidos na indução de tolerância oral e incluem a deleção ou anergia de células T reativas a antígeno ou a ativação das células T CD4+ que suprimem a inflamação intestinal através da secreção de citocinas inibitórias (IL-10, TGF- β). A tolerância oral pode ser responsável pela falta de responsividade imune aos antígenos da dieta e da flora comensal na luz intestinal. Na doença inflamatória intestinal esse estado estreitamente regulado de supressão da inflamação mostra-se alterado, levando a inflamação descontrolada. (Friedman & Blumberg, 2001)

Na colite ulcerativa, as células CD4+ ativadas presentes na lâmina própria e no sangue periférico secretam citocinas inflamatórias. Algumas ativam diretamente células inflamatórias e outras atuam indiretamente recrutando outros linfócitos, leucócitos inflamatórios e células mononucleares da circulação periférica para o intestino através de interações entre receptores residentes dos leucócitos e adressinas do endotélio vascular. As células T CD4+ podem ser subdivididas em duas categorias principais, ambas as quais podem estar associadas a colite: células Th1 (IFN- γ , TNF) e células Th2 (IL-4, IL-5, IL-13). Sendo as células Th2 que parecem induzir inflamação superficial da mucosa mais típica da colite ulcerativa. Assim, o uso de anticorpos para bloquear as citocinas pró-inflamatórias ou de moléculas associada ao recrutamento de leucócitos, ou o uso de citocinas que inibam a inflamação ou promovam a função da barreira intestinal podem ser benéficos em seres humanos com colite (Friedman & Blumberg, 2001).

Uma vez iniciada na doença inflamatória intestinal, a resposta inflamatória imune é perpetuada com uma consequência da ativação das células T. Uma cascata

seqüencial de mediadores inflamatórios atua ampliando a resposta. As citocinas inflamatórias, como a IL-1, IL-6 e o TNF, tem diversos efeitos nos tecidos. Essas citocinas normalmente são produzidas em resposta a infecção, mas em geral são desativadas ou inibidas no momento apropriado para limitar o dano tecidual. Entretanto, na doença inflamatória intestinal sua atividade não é regulada, resultando em um desequilíbrio entre os mediadores pró-inflamatórios e antiinflamatórios (Friedman & Blumberg, 2001).

Estudos recentes sugerem que a colite ulcerativa resulta de respostas imunes inadequadas frente à patógenos entéricos em indivíduos susceptíveis (Farrell & Peppercorn, 2002). Essa predisposição não envolveria somente fatores genéticos, mas também o ambiente ao qual o indivíduo é exposto. Esses fatores ambientais incluiriam o estresse psicológico, a intolerância a alguns fármacos, como as drogas antiinflamatórias não esteroidais, infecções excessivas e o não recebimento de leite materno na infância (Theis & Boyko, 1994; Wurzelmann et al., 1994; Corrao et al., 1998). A exacerbação da colite pelo uso de antiinflamatórios não esteroidais é uma condição bem conhecida, contudo a exata fisiopatologia continua obscura, é provável que eicosanóides, através da supressão colônica de prostaglandina E₂ acompanhado ou não por compensatório aumento em leucotrieno B₄, interpretando um papel fundamental (Breganó et al., 2008).

No estudo de Breganó e colaboradores (2008) o grupo animal com colite ulcerativa que recebeu diclofenaco apresentou superiores danos macroscópico e histológico com uma incidência de mortalidade de 66%, enquanto não houve mortalidade nos outros grupos.

Segundo Qiu e colaboradores (1999) o estresse provocado em camundongos aumenta a permeabilidade intestinal, o que pode colaborar para a

instalação de um quadro infeccioso. Contudo, no que diz respeito aos fatores ambientais e a doença inflamatória intestinal, o aspecto mais curioso envolve o ato de fumar, onde devido à nicotina, fumantes parecem desenvolver uma proteção contra o desenvolvimento de colite ulcerativa. Tem sido demonstrado que o ato de fumar, concomitante à exposição à nicotina afeta a imunidade celular (inibindo respostas do tipo Th2, reduzindo a concentração de citocinas pró-inflamatórias), aumenta a produção de muco no cólon, reduz a motilidade intestinal, mas não afeta a permeabilidade intestinal (Sher et al., 1999; Hara, 2007).

Entretanto, atualmente novas pesquisas estão sendo direcionadas a citocinas até então pouco exploradas, como a IL-7 e seu receptor IL-7R, uma vez que animais com deleção gênica para essa citocina não desenvolvem colite ulcerativa (Ogata & Hibi, 2003) e a IL-23, que está sendo apresentada como a citocina que coordenaria as respostas imunes do intestino e seria a responsável pela perpetuação da inflamação intestinal (Neurath, 2007; Hara, 2007).

Investigações sobre a relação entre o NO e a inflamação intestinal tiveram início nos anos 90. No trato gastrointestinal o NO é grandemente sintetizado pelas enzimas eNOS, nNOS e também pelo iNOS, presente constitutivamente pois, o tubo digestivo é exposto diretamente a antígenos e a diversos produtos bacterianos que funcionam como estímulo para sua indução (Nathan & Xie, 1994). No trato gastrointestinal, o NO possui diversas funções, contudo a mais relevante é a de modular a permeabilidade da mucosa intestinal (Kubes, 1992). Quanto à doença inflamatória intestinal, os dados mais substanciais se referem à iNOS e seu papel no processo inflamatório intestinal. Em trabalhos com modelo animal e colite induzida por TNBS os resultados indicam que o tratamento oral com a L-NAME diminuiu todos os sinais inflamatórios avaliados, como adesão tecidual, ulceração e

migração celular (Miller et al., 1993). Entretanto, pesquisas complementares foram realizadas incluindo não somente a iNOS mas a eNOS e a nNOS, na tentativa de se elucidar o papel do NO na colite. Sasaki e colaboradores (2003), sugerem um papel fundamental da eNOS na proteção contra os danos da mucosa intestinal e na diminuição da exacerbada migração celular no modelo de colite por DSS. No que se refere à eNOS, de modo interessante, também é descrito na literatura que indivíduos com doença inflamatória intestinal não apresentam sua expressão alterada quando comparado com indivíduos saudáveis (Dijkstra et al., 1998; Kubes & MacCafferty, 2000; Sasaki et al., 2003). Quanto à nNOS, é demonstrado na literatura seu papel protetor na colite por DSS em camundongos, uma vez que animais com deleção gênica para essa enzima apresentam quadros de colite severa (Beck et al., 2004; Hara, 2007).

Evidências recentes sugerem que o metabolismo oxidativo anormal pode ter uma significância grande na atividade da doença inflamatória intestinal, aparentemente os metabólitos reativos de oxigênio são produzidos em excesso (Carrier et al., 2002; Poussios et al., 2003; Reifen et al., 2004; Yavuz et al., 1999). Espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (NO , O_2^- , ONOO^- , H_2O_2 , OCL) são produzidos somente por leucócitos fagocitários presentes na mucosa inflamada, tem sido considerado o mecanismo patogênico da mucosa danificada, via peroxidação lipídica em ácidos graxo poliinsaturados da membrana celular, sendo responsável por alterações na permeabilidade, e morte celular (Breganó et al., 2008). Os efeitos de antiinflamatórios antioxidantes específicos, como os aminosalicilatos, são compatíveis com a proposição de que radicais livres têm um papel importante na patogênese das doenças inflamatórias intestinais (Pravda, 2005; Seril et al., 2003; Damiani, 2006).

Como comentado anteriormente, a sintomatologia clínica da colite ulcerativa é decorrente da infiltração neutrofílica no epitélio colônico. Esta infiltração leucocitária é devido à ruptura da barreira colônica com conseqüente invasão bacteriana e estímulo antigênico. Ocorre liberação de mediadores inflamatórios, como algumas citocinas e metabólitos do ácido araquidônico (Lobos et al., 1987; Sartor, 1991; Vowinkel et al., 2004), bem como liberação de radicais livres de oxigênio, o que poderia levar ao dano oxidativo, realimentando o ciclo patogênico (Grisham & Yamada, 1992; Fiocchi et al., 1994; Fiocchi, 1997).

O tratamento prévio com enzimas antioxidantes, como a CAT e SOD, e vitamina E preveniu o dano tecidual em modelo animal de colite ulcerativa (Yavuz et al., 1999; Carrier et al., 2002; Poussios et al., 2003; Reifen et al., 2004). Também foi demonstrado que a suplementação com ferro aumentou a atividade da colite, demonstrada por maior lesão tecidual, hemorragia retal intensa e diminuição da atividade da enzima antioxidante GPX. Esse é um fator agravante, pois geralmente os pacientes afetados apresentam anemia ferropriva e necessitam da suplementação de ferro. Esses dados são importantes, pois confirmam o papel das espécies reativas de oxigênio na doença, já que o ferro aumenta a produção das mesmas pela reação de Fenton (Carrier et al., 2002). Nesse contexto, recentemente foi demonstrado que o ferro aumenta a atividade inflamatória e lesão tecidual em modelo animal de colite induzida por ácido 2,4,6-trinitro benzênico sulfônico (Uritski et al., 2004). No estudo realizado por Aamodt e colaboradores (2008) foi encontrado que o risco de desenvolvimento de doença de Crhon e colite ulcerativa foi associado com o conteúdo de ferro na água ingerida. Para estes autores o ferro trabalha como um catalizador e aumenta o estresse oxidativo e a produção de moléculas reativas de oxigênio (Aamodt et al, 2008).

Recentemente, Damiani e colaboradores (2007) demonstraram que há um aumento na atividade do complexo IV na colite experimental induzida por DSS.

Alterações no metabolismo energético parecem estar associadas com processos de lesão e morte celular que estão envolvidos com a patogênese de várias doenças (Land et al., 2004; Hosler et al., 2006; Lin & Beal, 2006). Sabe-se também que deficiências no funcionamento normal da cadeia respiratória mitocondrial levam a uma rápida queda na obtenção de energia, aumento da produção de espécies reativas de oxigênio e, conseqüentemente, à lesão e morte celular (Barja, 1999; Navarro & Boveris, 2007). Shkoda e colaboradores (2007) sugerem que inflamação crônica intestinal representa uma doença com alterações no metabolismo oxidativo de células epiteliais e uma depleção energética. Esta suposição é ainda apoiada pela descoberta que níveis de ATP estão diminuídos na mucosa de pacientes com colite ulcerativa. Estes autores demonstraram que 32% de toda proteína regulada diferencialmente estava associada com metabolismo energético especialmente com mudanças em glicólise e ciclo tricarboxílico, bem como β -oxidação de ácidos graxos e respiração mitocondrial. A indução de L-lactato desidrogenase em pacientes com doença inflamatória intestinal pode indicar uma mudança na direção de glicose anaeróbia para a geração de ATP, sugerindo a presença de estresse celular e condições hipóxicas em tecido cronicamente inflamado (Shkoda et al., 2007).

1.6 TRATAMENTO

Até os dias atuais não existe uma terapia clínica definitiva para colite ulcerativa; os fármacos em uso visam produzir e manter estados de remissão da doença, porém sem curá-las. Ao se instituir o tratamento clínico da doença, leva-se em consideração a severidade da doença (Corman, 2005; Damiani, 2006).

Há muitos anos os fármacos mais utilizados para o tratamento da colite ulcerativa leve e moderada são os aminosalicilatos, especialmente a SSZ. A SSZ é um conjugado de mesalazina ou ácido 5-ASA ligado a sulfapiridina. Nos casos em que não houve resposta aos salicilatos, ou na doença moderada à grave, pode-se fazer uso dos corticóides (Goodman & Gilman, 2003; Damiani, 2006;).

Os corticóides (hidrocortisona, prednisona e prednisolona) constituem os medicamentos de escolha para casos moderados e graves de doença inflamatória intestinal ou nos casos que não respondem aos aminosalicilatos (Damião & Sipahi, 2000; Damiani, 2006). Prednisolona inibe ácido araquidônico e outras PUFAS liberados da membrana de fosfolípidos pela fosfolipase A_2 (Kawakami et al., 2007). Por causa dos efeitos colaterais dos corticóides tradicionais, novos corticóides foram desenvolvidos na tentativa de reduzir tais efeitos. O mais estudado tem sido a budesonida, que é rapidamente metabolizada (cerca de 90%) em produtos inativos logo após sua primeira passagem no fígado. Na colite ulcerativa distal a budesonida na forma de enema é equivalente ao 5-ASA tópico e tão eficaz ou melhor do que corticóides tradicionais, com a vantagem de provocar menos efeitos colaterais. (Damião & Sipahi, 2000)

Os imunomoduladores são fármacos aceitos como apropriados para o manejo por longo tempo em pacientes com doença inflamatória intestinal (Damiani,

2006). Neste grupo de medicamentos, comumente incluímos a AZA e a 6-MP, a cloroquina e a ciclosporina. AZA e 6-MP são potentes imunossupressores, inibindo a atividade de linfócitos T e B, além de células natural Killer NK, e em altas doses, AZA inibe a síntese de prostaglandinas. Ambas são drogas de ação retardada. De maneira geral, AZA e 6-MP estão indicadas nas formas corticóide-dependentes, para facilitar a redução do corticóide. Já a cloroquina, um reconhecido agente contra a malária com propriedades antiinflamatórias e imunomoduladoras, foi tão eficaz quanto a SSZ, via oral. Com uso prolongado (>6 meses) pode haver retinopatia ou depósitos na córnea (Damião & Sipahi, 2000).

Dentre as novas modalidades terapêuticas na doença inflamatória intestinal, duas tem merecido especial atenção: anticorpo contra o TNF- α e o uso de probióticos (Damião & Sipahi, 2000). O uso de agente anti-TNF- α tem demonstrado efetividade em casos de doença de Crohn em pacientes corticóide-dependente ou pacientes intratáveis, bem como aqueles com fístula crônicas. O TNF- α está associado com injúria tecidual associado a endotoxemia, estimula o crescimento de fibroblastos humanos, ativa neutrófilos e osteoclastos, e é responsável pela indução de IL-1 e PG - E₂ (Damiani, 2006).

O tratamento probiótico está sendo avaliado como um modo alternativo de manipulando a microflora na inflamação crônica (Osman et al., 2006). Ele consiste em oferecer ao paciente bactérias não patogênicas que irão modificar a flora intestinal, substituindo as cepas mais agressivas e, com isso, dentro do conceito etiopatogênico atual, reduz-se a agressão antigênica oriunda das bactérias patogênicas, mais agressivas. Os probióticos mais utilizados são os *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Saccaromyces boulardii* e *Streptococcus salivarius*. Os probióticos inibem a capacidade de aderência de bactérias aeróbias gram-negativas, secretam

inibidores de Salmonella, Listeria, Clostridium e Escherichia coli, reduzem o pH colônico, o que acaba por inibir o crescimento de bactérias patogênicas e estimulam a produção de fatores de crescimento e a síntese de IgA secretora (Damião & Sipahi, 2000).

Outros agentes e medidas utilizadas na condução clínica das doenças inflamatórias intestinais incluem enema de sucralfato, enema de butirato, nicotina, agentes antidiarreicos, medidas dietéticas e psicoterapia (Damiani, 2006).

1.7 METABOLISMO ENERGÉTICO

Os processos da vida requerem que as moléculas consumidas como nutrientes sejam quebradas para que se possa extrair energia delas e sejam utilizadas para dar sustentação na formação de novas moléculas (Campbell, 2005). Essas transformações energéticas ocorrem a todo o momento na célula, sendo estes fenômenos caracterizados como metabolismo. O metabolismo é formado de uma série de reações químicas, que se iniciam com uma molécula em particular e transformada ao final em outra molécula, através de meios cuidadosamente definidos (Berg et al., 2008).

A glicose é a principal fonte de energia utilizada pelas células e ocupa uma posição central no metabolismo. Ao entrar na célula, a glicose pode ser metabolizada em diferentes rotas metabólicas, porém a glicólise é a sua principal via de degradação. Esse processo é catalisado por um conjunto de dez enzimas, tendo como produto final o piruvato, que posteriormente é convertido a acetil-CoA e este é parte integrada do ciclo de Krebs (Berg et al., 2008). A acetil-CoA, formada pela piruvato desidrogenase a partir do piruvato, é completamente oxidada a CO₂ pelo

ciclo de Krebs, por uma série de reações composta por oito etapas, onde cada uma é catalisada por enzimas diferentes (Lehninger et al., 2007; Berg et al., 2008).

A ação conjunta do ciclo de Krebs e da fosforilação oxidativa é responsável pela maior parte da produção de ATP gerada pelos seres humanos, ou seja, a fosforilação oxidativa trata-se de um sistema mitocondrial que acopla à respiração a geração de um intermediário de alta energia, neste processo, equivalentes redutores, principalmente as formas reduzidas da NADH e FADH₂, são oxidadas pela molécula de oxigênio em suas formas oxidadas (NAD⁺ e FAD, respectivamente) (Lehninger et al., 2007).

Os dinucleotídeos reduzidos NADH e FADH₂, provenientes da oxidação da glicose, ácidos graxos, aminoácidos e intermediários do ciclo de Krebs são disponibilizados para dentro da cadeia respiratória, onde são transferidos através de um gradiente eletro-químico, para a transformação de oxigênio em água e ADP em ATP na fosforilação oxidativa (Ernster, 1959). A cadeia respiratória mitocondrial é composta por quatro complexos enzimáticos, NADH desidrogenase (complexo I), succinato desidrogenase (complexo II), ubiquinona-citocromo c oxidorreductase (complexo III), citocromo oxidase (complexo IV). A cadeia respiratória possui também dois transportadores móveis de elétrons entre os complexos, são eles a CoQ, um componente não protéico lipossolúvel que carrega elétrons entre os complexos I e III, e o citocromo c, uma proteína localizada na face externa da membrana que transfere elétrons do complexo III para o complexo IV (figura 1) (Marks et al., 1996).

O fluxo de elétrons através dos complexos da cadeia respiratória é acompanhado pelo bombeamento de prótons da matriz mitocondrial para o espaço intermembranas. Com isso, cria-se um gradiente eletroquímico transmembrana

utilizado por um quinto complexo protéico, a ATP sintase, para a síntese de ATP. Dessa forma, a oxidação de substratos energéticos está acoplada ao processo de fosforilação do ADP (Leonard & Schapira, 2000).

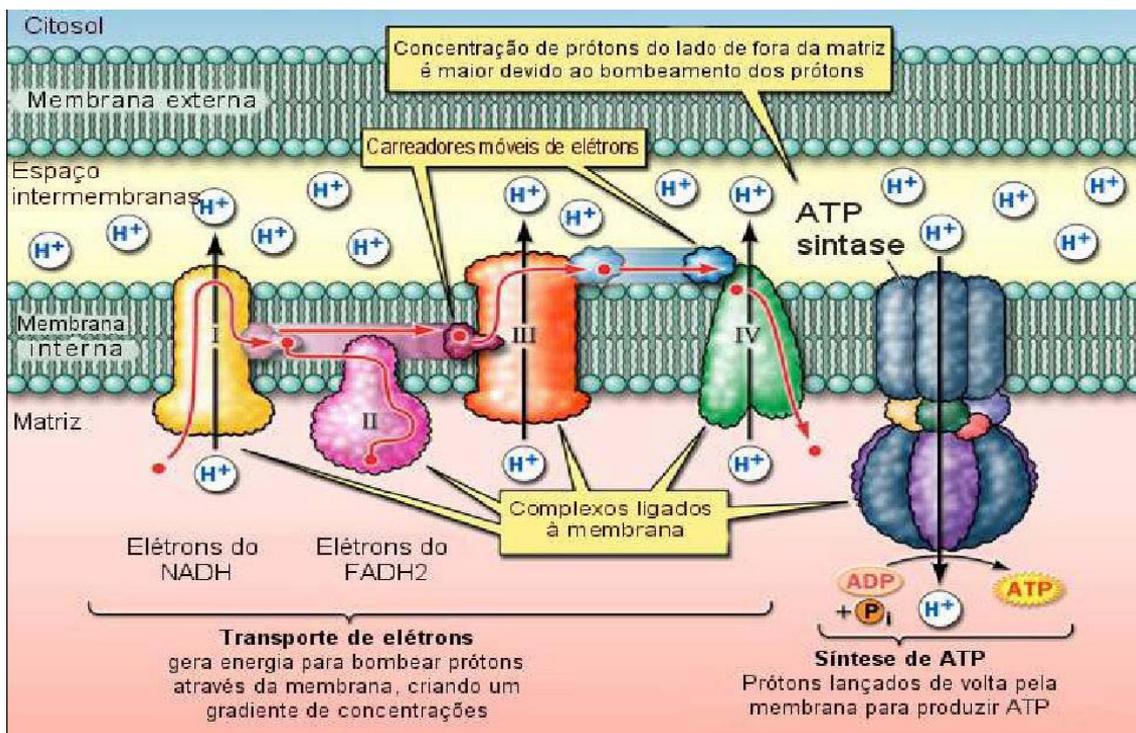


Figura 1. Esquema ilustrativo da Cadeia Respiratória Mitocondrial.
Fonte: Lehninger (2007).

Deficiências no funcionamento normal da cadeia respiratória mitocondrial levam à diminuição da síntese de ATP (Heales et al., 2003). Sabe-se também que o dano causado à mitocôndria leva a uma rápida queda na produção de energia e morte celular (Ankarcrona et al., 1995).

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar parâmetros de metabolismo mitocondrial em biópsias de intestino de pacientes com colite ulcerativa, bem como em pacientes sem esta doença inflamatória do trato gastrointestinal, que serão usados como grupo controle (não será realizada biópsia em nenhum paciente se não houver a suspeita clínica de alguma doença intestinal).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos deste trabalho são:

- avaliar a atividade do complexo I da cadeia respiratória mitocondrial em biópsias de intestino de pacientes com colite ulcerativa, bem como em pacientes sem esta doença inflamatória do trato gastrointestinal, que serão usados como grupo controle.

- avaliar a atividade do complexo II da cadeia respiratória mitocondrial em biópsias de intestino de pacientes com colite ulcerativa, bem como em pacientes sem esta doença inflamatória do trato gastrointestinal, que serão usados como grupo controle.

- avaliar a atividade do complexo III da cadeia respiratória mitocondrial em biópsias de intestino de pacientes com colite ulcerativa, bem como em pacientes

sem esta doença inflamatória do trato gastrointestinal, que serão usados como grupo controle.

- avaliar a atividade do complexo IV da cadeia respiratória mitocondrial em biópsias de intestino de pacientes com colite ulcerativa, bem como em pacientes sem esta doença inflamatória do trato gastrointestinal, que serão usados como grupo controle.

3. RESULTADOS

ARTIGO 1

Mitochondrial respiratory chain in the colonic mucosal of patients with ulcerative colitis.

Karla G. Sifroni, Carlos R. Damiani, Cristhopher Stoffel, Mariane R. Cardoso, Gabriela K. Ferreira, Isabela C. Jeremias, Gislaine T. Rezin, Giselli Scaini, Felipe Dal-Pizzol, Emilio L. Streck.

4. DISCUSSÃO

As duas principais formas de doenças inflamatórias intestinais, doença de Crohn e colite ulcerativa, são caracterizadas por recorrente inflamação do trato gastrointestinal acompanhado por dor abdominal, diarreia e mucosa danificada (Theiss et al., 2007). Embora diversos fatores sejam apontados como responsáveis pela etiologia da colite ulcerativa, a interação entre a susceptibilidade genética, ambiental e imunológica parece ser o mais aceito. Contudo, algumas evidências da literatura sugerem que estresse oxidativo e a disfunção mitocondrial podem desempenhar um papel importante na patogênese desta doença.

No presente trabalho, que teve como o objetivo medir a atividade dos complexos da cadeia respiratória mitocondrial, observou-se uma diminuição da atividade dos complexos II, III e IV nas biópsias de intestino de pacientes com colite ulcerativa quando comparados ao grupo controle, porém a atividade do complexo I não foi alterada. Estes resultados sugerem uma diminuída produção de ATP na mitocôndria. A cadeia respiratória mitocondrial danificada pode levar a uma aumentada produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e conseqüentemente a um desequilíbrio entre mecanismos pró-oxidantes e antioxidantes.

Foi demonstrado que superprodução de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, como NO, O_2^- , $ONOO^-$, H_2O_2 e OCL, ocorre no cólon de pacientes com doença inflamatória intestinal e em modelo animal de colite. Além das espécies reativas de oxigênio, neutrófilos e monócitos ativados também secretam a hemoproteína mieloperoxidase no meio extracelular, que catalisa a oxidação de íons cloreto através de peróxido de hidrogênio para produzir oxidantes altamente reativos e agentes de cloração do ácido hipocloroso. O aumento na produção de espécies

reativas de oxigênio causa defeitos no genoma mitocondrial, lipoperoxidação e dano oxidativo de proteínas, ocasionando uma fosforilação oxidativa danificada, que não somente limita a geração de ATP, mas também proporciona um aumento na produção de espécies reativas de oxigênio. Além disso, a excessiva liberação de espécies reativas de oxigênio por células polimorfonucleares tem sido o principal mecanismo para a lesão colônica na colite ulcerativa, quando ocorre acentuada lipoperoxidação lipídica (Breganó et al., 2007).

Pravda (2005) e Daminani (2006) apontam o peróxido de hidrogênio como o principal responsável pela cascata de eventos que leva a colite ulcerativa, onde numa primeira fase os colonócitos são induzidos a gerar um excesso de H_2O_2 não neutralizado devido ao estresse oxidativo do metabolismo celular. A difusão inicial intermitente de H_2O_2 de células epiteliais compromete a barreira local da mucosa colônica e causa uma transitória ativação imune resultando em produção de citocina e manifestações extra-intestinais. A continuação do processo oxidativo na barreira colônica culmina com infiltração neutrofílica, originando a segunda fase do processo, onde o paciente apresenta sinais de comprometimento da integridade da mucosa. A contínua estimulação de neutrófilos da mucosa pelas bactérias fecais converte a condição em uma auto-estimulação e auto-perpetuação do processo.

Neste contexto, alguns trabalhos mostraram que dano mitocondrial é um precoce evento que precede a bruta inflamação em pacientes com colite ulcerativa. Santhanam e colaboradores (2007) relataram uma diminuição na acetoacetil CoA tiolasa mitocondrial em pacientes com colite ulcerativa. Os autores sugerem que esta diminuição ocorre em função do aumento na produção de espécies reativas de oxigênio pelas células epiteliais na colite ulcerativa, o que pode constituir a base deste defeito. Além disso, estudos proteômicos relataram a baixa expressão de

algumas proteínas mitocondriais em tecidos inflamados e não-inflamados de pacientes com colite ulcerativa. Alterações na mitocôndria de pacientes com doença inflamatória intestinal também tem sido relatado.

Head e Jurenka (2003) demonstraram que pacientes com colite ulcerativa apresentam um aumento na produção de intermediários reativos de oxigênio, produtos de oxidação do DNA e ferro no tecido inflamado comparado ao controle. Diminuídos níveis de cobre e zinco, cofatores para o antioxidante endógeno SOD, foram também observados. Além disso, foi relatado um aumento das proteínas carboniladas na mucosa inflamada. Desta forma, o estudo corrobora com as hipóteses de que os radicais livres podem produzir dano na mucosa de pacientes acometidos por doenças inflamatórias intestinais (Head e Jurenka, 2003).

Conforme relatado, ainda, por Head e Jurenka (2003) a teoria proposta por vários pesquisadores supõe produção de TNF- α por espécies reativas de oxigênio; espécies reativas de oxigênio por sua vez ativa NF- κ B que então aumenta mais a produção de TNF- α , propagando um ciclo vicioso.

Tomando em conjunto nossos presentes achados e os dados da literatura, nós supomos que a inibição da cadeia respiratória mitocondrial e o estresse oxidativo podem desempenhar um papel crucial na patogênese da colite ulcerativa. Tirosh e colaboradores (2007) demonstraram que a lesão tecidual na colite ulcerativa induzida por TNBS é acompanhada pelo impedimento da respiração mitocondrial, perda do DNA mitocondrial e a expressão das proteínas mitocôndrias nucleares codificadas. O selênio também preveniu mudanças inflamatórias e necróticas após a indução da colite (Tirosh et al., 2007). Em outro estudo, Bou-Fersen e colaboradores (2008) relataram deformidades na mucosa e músculo liso

em regiões inflamadas e não-inflamadas do trato gastrointestinal em colite experimental.

As terapias disponíveis atualmente tais como a SSZ, esteróides e agentes imunossupressores não são completamente satisfatórios, uma vez que seu uso está associado a importantes efeitos colaterais ou possuem um custo muito elevado. Embora efetivos durante a fase aguda da doença, esses agentes falham ao prolongar a remissão da colite ulcerativa (Isaacs et al., 2005; Jakobovits & Travis, 2005). Neste contexto, o desenvolvimento de agentes terapêuticos mais seguros e efetivos para o tratamento de doenças inflamatórias crônicas e em especial para colite ulcerativa se faz necessário, entretanto, para o desenvolvimento de agentes terapêuticos mais eficazes, é necessário um melhor entendimento dos mecanismos patológicos da colite ulcerativa.

5. REFERÊNCIAS

- AAMODT, G; BUKHOLM, G; JAHNSEN, J; MOUM, B; MORTEN, HV; IBSEN Study Group. The Association Between Water Supply and Inflammatory Bowel Disease Based on a 1990 – 1993 Cohort Study in Southeastern Norway. **Am J Epidemiol** 168: 1065-1072. 2008.
- ANKARCRONA, M; DYPBUKT, JM; BONFOCO, E; ZHIVOTOVSKY, B; ORRENIUS, S; LIPTON, AS; NICOTERA, P. Glutamate-induced neuronal death: a succession of necrosis or apoptosis depending on mitochondrial function. **Neuron**, 15: 961-973. 1995.
- BAMIAS, G, COMINELLI, F. Immunopathogenesis of inflammatory bowel disease: current concepts. **Curr. Opin. Gastroenterol.**, 23: 365-369. 2007.
- BARJA, G. Mitochondrial oxygen radical generation and leak: sites of production in states 4 and 3, organ specificity, and relation to aging and longevity. **J. Bioenerg. Biomembr.** 31: 347-366. 1999.
- BAUMGART, D; CARDING, SR. Inflammatory bowel disease: cause and immunobiology. **Lancet.** 369 : 1627-1640. 2007.
- BECK, PL, XAVIER, R; WONG, J; EZEDI, I; MASHIMO, H; MIZOGUCHI, A; et al. Paradoxical roles of different nitric oxide synthase isoforms in colonic injury. **Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver. Physiol.** 286: 137-147. 2004.
- BERG, JM; TYMOCZKO, JL; STRYER, L. **Bioquímica.** 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2008.
- BOU-FERSEN, AM; ANIM JT; KHAN I. Experimental colitis is associated with ultrastructural changes in inflamed and uninfamed regions of the gastrointestinal tract. **Med. Princ. Pract.** 17: 190-196. 2008

- BOUMA, G., STROBER, W. The immunological and genetic basis of inflammatory bowel disease. **Nat. Immunol.** 3: 521-533. 2003.
- BRASILEIRO FILHO, G. **Bogliolo Patologia**. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, pp. 616-618, 2000.
- BREGANÓ, JW; DICHI, JB; BARBOSA, DS; EL KADRI, MZ.; MATSUO, T; RODRIGUES, M. A.; CECCHINI, R.; DICHI, I. Decreased Total Antioxidant Capacity in Plasma, but Not Tissue, in Experimental Colitis. **Dig. Dis. Sci.** 54: 751-757. 2008.
- CAMPBELL, MK. **Bioquímica**. 3ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.
- CARRIER, J; AGHDASSI, E; CULLEN, J; et al. Iron supplementation increases disease activity and vitamin E ameliorates the effect in rats with dextran sulfate sodium-induced colitis. **J. Nutr.** 132, 3146-3150. 2002.
- CORMAN, ML. **Colon and rectal surgery**. 5.ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2005.
- CORRAO, G; TRAGNONE, A; CAPRILLI, R. Risk of inflammatory bowel disease attributable to smoking, oral contraception and breastfeeding in Italy: a nationwide case-control study- Cooperative investigators of the Italian group for the study of colon and rectum (GISC). **Int. J. Epidemiol.**, 27: 397-404. 1998.
- DAMIANI, CR. Estresse Oxidativo e Metabolismo em Modelo Animal de Colite Induzida por Dextran Sulfato de Sódio (dissertação de mestrado UNESC). Criciúma, 2006.
- DAMIANI, CR; BENETTON, CA; STOFFEL, C; BARDINI, KC.; CARDOSO, VH; GIUNTA, GD; PINHO, RA.; DAL-PIZZOL, F; STRECK, EL. Oxidative stress and metabolism in animal model of colitis induced by dextran sulfate sodium. **J. Gastroenterol. Hepatol.** 22: 1846-1851. 2007.

- DAMIÃO, A; SIPAHI, AM. Doença inflamatória intestinal. In: Joaquim Prado Pinto de Moraes Filho; Durval Rosa Borges. (Org.). Manual de Gastroenterologia. 2ª ed. Roca, São Paulo, pp. 234-260. 2000.
- DIJKSTRA, G; MOSHAGE, H; VAN DULLEMEN, HM; JAGER-KRIKKEN, A; TIEBOSOH, AT; KLEIBEUKER, JH; et al. Expression of nitric oxide synthases and formation of nitrotyrosine and reactive oxygen species in inflammatory bowel disease. **J. Pathol.**, 186: 416-421, 1998.
- ERNSTER, L; IKKOS, D; LUFT, R. Enzymic activities of human skeletal muscle mitochondria: a tool in clinical metabolic research. **Nature**. 184: 1851-1854. 1959.
- FARRELL, RJ; PEPERCORN, M A. Ulcerative colitis. **Lancet.**, 359: 331-340, 2002.
- FIOCCHI, C; BINION, DG; KATZ, JA. Cytokine production in the human gastrointestinal tract during inflammation. **Curr. Opin. Gastroenterol.** 2: 639-644. 1994.
- FIOCCHI, C. Intestinal inflammation: a complex interplay of immune and non-immune cell interactions. **Am. J. Physiol.** 273: 769-775. 1997.
- FRIEDMAN, S; BLUMBERG, RS. Doença Inflamatória Intestinal. In: Harrison Medicina Interna (Braunwald e, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL). Mc Graw Hill, Rio de Janeiro, pp 1779-1792 .2001
- GOODMAN, LS; GILMAN, A. **Goodman e Gilman: as bases farmacológicas da terapêutica**. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2006.
- GRISHAM, MB; YAMADA, T. Neutrophils, nitrogen oxides and inflammatory bowel disease. **Ann. NY Acad. Sci.** 664: 103-115. 1992.

- HARA, D.B. Estudo dos mecanismos envolvidos nas respostas contráteis induzidas por agonistas B₁ e B₂ para as aminas em cólons de camundongos: influencia da colite induzida por TNBS (dissertação de mestrado UFSC). Florianópolis, 2007.
- HEAD, KA; JURENKA, J. S. Inflammatory Bowel Disease Part I: Ulcerative Colitis – Pathophysiology and Conventional and Alternative Treatment Options. **Alternative Medicine Review**. 8: 247-283. 2003.
- HEALES, SJ; BOLAÑOS, JP; STEWART, VC; BROOKES, PS; LAND, JM; JALAN R; SHAWCROSS, D; DAVIES, N. The molecular pathogenesis of hepatic encephalopathy. **IJBCB**, 35: 1175-1181. 2003.
- HOSLER, JP; FERGUSON-MILLER, S; MILLS, DA. Energy transduction: proton transfer through the respiratory complexes. **Annu. Rev. Biochem.** 75:165-187. 2006.
- ISAACS, KL; Lewis, JD; Sandborn, WJ; Sands, BE; Targan, SR. State of the art: IBD therapy and clinical trials in IBD. **Inflamm. Bowel. Dis.** 11(1): S3-12, 2005.
- ITZKOWITZ, SH; YIO, X. Colorectal cancer in inflammatory bowel disease: the role of inflammation. **Am J Physiol**, 287:G7-G17, 2004.
- JAKOBOVITS, SL; TRAVIS, PL. Management of acute severe colitis. **Aliment Br. Med. Bull.**, 17:75-76, 2005.
- KAWAKAMI, Y; OKADA, H; MURAKAMI, Y; KAWAKAMI, T; UEDA, Y; KUNII, D; SAKAMOTO, Y; SHIRATORI, Y; OKITA, M. Dietary Intake, Neutrophil Fatty Acid Profile, Serum Antioxidant Vitamins and Oxygen Radical Absorbance Capacity in Patients with Ulcerative Colitis. **J Nutr Sci Vitaminol**, 53: 153-159. 2007.
- KUBES, P. Nitric oxide modulates epithelial permeability in the feline small intestine. **Am J. Physiol.**, 262: 1138-1142. 1992.

- KUBES, P, MCCAFFERTY, DM. Nitric oxide and intestinal inflammation. **Am. J. Med.**, 109: 150-158. 2000.
- LAKATOS, PL. Recent trends in the epidemiology of inflammatory bowel disease: up or down? **World. J. Gastroenterol**, 14: 6102-6108. 2006.
- LAND, JM; MORGAN-HUGHES, JA; HARGREAVES, I; et al. Mitochondrial disease: a historical, biochemical, and London perspective. **Neurochem. Res.** 29: 483-491, 2004.
- LEHNINGER, AL; NELSON, DL; COX, M.M. **Lehninger Princípios de Bioquímica.** 5^a ed. São Paulo: Sarvier, 2007.
- LEONARD, JV; SCHAPIRA, AH. Mitochondrial respiratory chain disorders II: neurodegenerative disorders and nuclear gene defects. **Lancet.** 355(9201): 389-394, 2000.
- LIN, MT; BEAL, MF. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases. **Nature.** 443: 787-795. 2006.
- LOBOS, EA; SHARON, P; STENSON, WF. Chemotatic activity in inflammation bowel disease. Role of leukotriene B4. **Dig Dis Sci**, 32: 1380-1388, 1987.
- MARKS, DB; MARKS, AD; SMITH, CM. **Basic Medical Biochemistry.** A Clinical Approach. Williams & Wilkins, Maryland, 1996.
- MAZIER, WP; et al. **Surgery of the colon, rectum, and anus.** Pennsylvania:L Saunders Company, 1995.
- MILLER, MJS; SADOWSKA-KROWICKA, H; CHOTINARUEMOL, S. Amelioration of chronic ileitis by nitric oxide synthase inhibition. **J. Pharm. Exp. Ther.** 264: 11-16.1993.
- NATHAN, C., XIE, Q. Nitric oxide synthases: roles, tolls and controls. **Cell.** 78: 915-918. 1994.

- NAVARRO, A; BOVERIS, A. The mitochondrial energy transduction system and the aging process. **Am. J. Physiol. Cell Physiol.** 292: 670-686. 2007.
- NEURATH, M. F. IL-23: a master regulation in Crohn disease. **Nature. Med.** 13: 26-28. 2007.
- OGATA, H; HIBI, T. Cytokine and anti-cytokine therapies for inflammatory bowel disease. **Curr. Pharm. Des.** 9: 1107-1113. 2003.
- OSMAN, N; ADAWI, D; MOLIN, G; AHRNE, S; BERGGREN, A; JEPPSSON, B. Bifidobacterium Infantis Strains with and without a Combination of Oligofructose and Inulin Attenuate Inflammation in DSS-induced Colitis in Rats. **BMG Gastroenterology**, 6: 31. 2006.
- PODOLSKY, DK. Inflammatory bowel disease. **N. Engl. J. Med.** 325: 928-937, 1991.
- PODOLSKY, DK. Inflammatory bowel disease. **N. Engl. J. Med.**, 347: 417-429, 2002.
- POUSSIOS, D; ANDREADOU, I; PAPALOIS, A; et al. Protective effect of a novel antioxidant non-steroidal anti-inflammatory agent (compound IA) on intestinal viability after acute mesenteric ischemia and reperfusion. **Eur. J. Pharmacol.** 465: 275-280. 2003.
- PRAVDA, J. Radical Induction Theory of ulcerative colitis. **World J Gastroenterol.** 11: 2371-2384. 2005 .
- QIU, BS; VALLANCE, BA; BLENNERHASSETT, PA; COLLINS, SM. The role of CD4+ lymphocytes in the susceptibility of mice to stress-induced reactivation of experimental colitis. **Nat. Med.** 5: 1178-1182. 1999.
- REIFEN, R; NISSENKORN, A; MATAS, Z; et al. 5-ASA and lycopene decrease the oxidative stress and inflammation induced by iron in rats with colitis. **J. Gastr.** 39: 514-519. 2004.

- SANTHANAM, A; VENKATRAMAN A; RAMAKRISHNA, BS. Impairment of mitochondrial acetoacetyl CoA thiolase activity in the colonic mucosa of patients with ulcerative colitis. **Gut.** 56: 1543-1549. 2007.
- SARTOR, RB. Pathogenic and clinical relevance of cytokines in inflammatory bowel disease. **Immunol. Res.** 10: 465-471. 1991.
- SASAKI, M; BHARWANI, S; JORDAN, P; ELROD, JW; GRISHAM, MB; JACKSON, TH; LEFER, DJ; ALEXANDER, JS. Increased disease activity in eNOS-deficient mice in experimental colitis. **Free. Radic. Biol. Med.**, 35: 1679-1687. 2003.
- SCHOTTENFELD, D; BEEBE-DIMMER, J. Chronic inflammation: a common and important factor in the pathogenesis of neoplasia. CA Cancer. **J. Clin.**, 56: 69-83. 2006.
- SERIL, DN; LIAO, J; YANG, GY; YANG, CS. Oxidative stress and ulcerative colitis-associated carcinogenesis: studies in humans and animal models. **Carcinogenesis** 24: 353-362. 2003.
- SHER, ME; BANK, S; GREENBERG, E. The influence of cigarette smoking on cytokine levels in patients with inflammatory bowel disease. **Inflamm. Bowel. Dis.**, 5: 73-78. 1999.
- SHIVANANDA, S; LENNARD-JONES, J; LOGAN, R; FEAR, N; PRICE, A; CARPENTER, L; BLANKENSTEIN, M. 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-IBD1). **Gut.**, 39: 690-697. 1996.
- SHKODA, A; WERNER, T; DANIEL, H; GUNCKEL, M; ROGLER, G; HALLER, D. Differential Protein Expression Profile in the Intestinal Epithelium from Patients

- with Inflammatory Bowel Disease. **Journal of Proteome Research** 6: 1114-1125. 2007.
- THEIS, MK; BOYKO, EJ. Patient perception of causes of inflammatory bowel disease. **Am. J. Gastroenterol.**, 89: 1920. 1994.
- THEISS, AL; IDELL, RD; SRINIVASAN, S; KLAPPROTH, JM; JONES, DP; MERLIN, D; SITARAMAN, SV. Prohibitin Protects Against Oxidative Stress in Intestinal Epithelial Cells. **The FASEB Journal** 21: 197-206. 2007.
- TIROSH, O; LEVY, E; REIFEN, R. High selenium diet protects against TNBS-induced acute inflammation, mitochondrial dysfunction, and secondary necrosis in rat colon, **Nutrition**. 23: 878-886. 2007.
- URITSKI, R; BARSHACK, I; BILKIS, I; et al. Dietary iron affects inflammatory status in a rat model of colitis. **J. Nutr.** 134: 2251-2255. 2004.
- VARGHESE, AK; VERDÚ, EF; BERCIK, P; KLAN, WI; BLENNERHASSETT, PA; SZECHTMAN, H; COLLINS, SM. Antidepressants attenuates increased susceptibility to colitis in a murine model of depression. **Gastroenterology**. 130: 1743-1753. 2006.
- VOWINKEL, T; MORI, M; KRIEGSTEIN, CF; et al. Apolipoprotein A-IV inhibits experimental colitis. **J. Clin. Invest.** 114: 260-269. 2004.
- Wurzelmann, JL; Lyles, CM; Sandler, RS. Childhood infection and the risk of inflammatory bowel disease. **Dig. Dis. Sci.** 39: 555-560. 1994.
- YAVUZ, Y; YUKSEL, M; YEGEN, BC; et al. The effect of antioxidant therapy on colonic inflammation in rat. **Res. Exp. Med.** 199. 101-110. 1999.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)