



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

ALLEXYA SOARES DE CARVALHO

**INFLUÊNCIA DA SÍNDROME METABÓLICA SOBRE O ESTADO
INFLAMATÓRIO E REDOX DE PACIENTES COM DOENÇA DE
CROHN**

Londrina
2024

ALLEXYA SOARES DE CARVALHO

**INFLUÊNCIA DA SÍNDROME METABÓLICA SOBRE O ESTADO
INFLAMATÓRIO E REDOX DE PACIENTES COM DOENÇA DE
CROHN**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Fisiopatologia Clínica e Laboratorial do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Danielle Venturini

Londrina
2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

C331i Carvalho, Alexya Soares de.

Influência da síndrome metabólica sobre o estado inflamatório e redox de pacientes com doença de Crohn / Alexya Soares de Carvalho. - Londrina, 2024.

82 f. : il.

Orientador: Danielle Venturini .

Dissertação (Mestrado em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial, 2024.

Inclui bibliografia.

1. Obesidade - Tese. 2. Estresse Oxidativo - Tese. 3. Doença de Crohn - Tese. 4. Síndrome Metabólica - Tese. I. Venturini , Danielle . II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial. III. Título.

CDU 61

ALLEXYA SOARES DE CARVALHO

**INFLUÊNCIA DA SÍNDROME METABÓLICA SOBRE O ESTADO
INFLAMATÓRIO E REDOX DE PACIENTES COM DOENÇA DE
CROHN**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Fisiopatologia Clínica e Laboratorial do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Profa. Dra. Danielle Venturini
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Profa. Dra Andressa Keiko Matsumoto
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr Marcell Alysson Batisti Lozovoy
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Londrina, 12 de dezembro de 2024.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me dar o dom da vida e me presentear com sabedoria para saber aproveitar as oportunidades vividas até o presente momento.

Agradeço meu noivo Lucas Marçola pelo amor, constante incentivo, pela compreensão, apoio, orgulho, e carinho durante toda a trajetória antes e durante esse mestrado.

À minha família, meus pais Sueli e Ilson, meus irmãos Matheus e Cintya, minhas avós Odila e Enedina pelo incentivo, amor e carinho.

À minha orientadora Prof. Dra. Danielle Venturini que com muita competência, dedicação e paciência me ensinou e orientou durante toda a trajetória deste mestrado.

Agradeço a equipe e alunos do Laboratório de Pós-Graduação pela acolhida e ensino durante todo esse período. Em especial, agradeço por aqueles que auxiliaram na execução desse trabalho (Juliana, Bruno, Tawane e Andressa).

Agradeço aos membros da Banca Examinadora por aceitarem o convite e participarem dessa etapa tão importante, contribuindo para a entrega desse trabalho.

Aos pacientes que contribuíram para a realização deste trabalho através de suas participações, sem eles nada disso seria possível.

Aos funcionários e alunos do Hospital Universitário de Londrina que tornaram esse trabalho possível: técnicos de coleta, técnicos de laboratório, plantonistas, pós-graduandos e estagiários.

RESUMO

Carvalho, Alexya Soares de. **Influência Da Síndrome Metabólica Sobre O Estado Inflamatório E Redox De Pacientes Com Doença De Crohn**. 2023. 81 folhas. Dissertação de mestrado (Centro de Ciências da Saúde) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2023.

Introdução: Doença de Crohn (DC) apresenta inflamação contínua no trato gastrointestinal. A presença de gordura visceral, comum na DC, aponta para uma possível ligação entre a síndrome metabólica (SM) e a inflamação intestinal, podendo levar ao aumento da inflamação e do estresse oxidativo (EO) em pacientes nessas condições. **Objetivos:** Analisar e comparar os níveis de biomarcadores bioquímicos, inflamatórios e de EO e nitrosativo entre dois grupos de pacientes com DC portadores ou não de SM. **Metodologia:** Estudo transversal onde foram selecionados indivíduos com DC e divididos em dois grupos: 1-DC com SM (n=24), 2-DC sem SM (n=63). A atividade clínica da doença foi avaliada pelo Índice de Atividade da DC (CAI). Foram realizadas análises bioquímicas e inflamatórias (creatinina (CRE), aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), proteína c reativa (PCR), ferritina, ferro sérico, albumina (ALB), proteínas totais, insulina, glicemia em jejum (GLI), modelo de avaliação da homeostase da resistência à insulina (HOMA-IR), lipoproteína de baixa densidade (LDL), lipoproteína de alta densidade (HDL), colesterol total (CT), triglicérides (TRI), velocidade de hemossedimentação (VHS), leucócitos totais, plaquetas, hemoglobina) e de EO (determinação dos produtos avançados de oxidação proteica (AOPP), metabólitos do óxido nítrico (Nox), capacidade antioxidante total plasmática (TRAP), determinação da superóxido dismutase (SOD), determinação da catalase (CAT), determinação da glutathione peroxidase (Gpx), determinação da atividade da paraoxonase-1 (PON-1) total e grupamento Sulfidrila (SH)), além da avaliação dos dados clínicos. O diagnóstico de SM foi feito por meio da definição do NCEP-ATP III. **Resultados:** O grupo com DC/SM apresentou diferença significativa e maiores valores em relação à idade, índice de massa corporal (IMC), circunferência abdominal (CA), frequência de hipertensão arterial, DM e dislipidemia, quando comparado com o grupo sem SM. Houve maior uso de medicamentos anti-hipertensivos, hipoglicêmicos e hipolipemiantes no grupo com SM. Níveis de TRI, GLI, insulina e ALT, apresentaram-se aumentados no grupo com DC/SM. O marcador de EO, AOPP mostrou níveis mais elevados no grupo DC/SM. Correlações positivas foram encontradas entre AOPP com CT, TRI, GLI, AST e ALT; Nox com TRI, GLI, AST e ALT; GSH com GLI; SH com ALB; SOD com insulina; PON1 total com hemoglobina e leucócitos. Apresentaram correlações negativas os parâmetros TRAP com plaquetas; SH com leucócitos e VHS; CAT com hemoglobina, TRI, ALT. **Conclusão:** Foi observado que os pacientes com DC e SM apresentaram alterações em seus marcadores de EO, especialmente os AOPPs que se mostrou ser um marcador sensível quando comparado à influência da SM sobre o estado inflamatório e EO em pacientes com DC.

Palavras-chave: Obesidade, Doença de Crohn, Síndrome Metabólica, Estresse Oxidativo.

ABSTRACT

Carvalho, Alexya Soares de. **Influence of Metabolic Syndrome on the Inflammatory and Redox State of Patients with Crohn's Disease**. 2023. 81 folhas. Dissertação de mestrado (Centro de Ciências da Saúde) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2023.

Introduction: Crohn's disease (CD) shows continuous inflammation in the gastrointestinal tract. The presence of visceral fat, common in CD, points to a possible link between metabolic syndrome (MS) and intestinal inflammation, which may lead to increased inflammation and oxidative stress (OS) in patients under these conditions. **Objectives:** To analyze and compare the levels of biochemical, inflammatory and EO biomarkers and nitrosative between two groups of patients with CD with or without MS. **Methodology:** Cross-sectional study where individuals with CD were selected and divided into two groups: 1-CD with MS (n=24), 2-CD without MS (n=63). The clinical activity of the disease was evaluated by the CD Activity Index (CDAI). Biochemical and inflammatory analyses (creatinine (CRE), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), c-reactive protein (CRP), ferritin, serum iron, albumin (ALB), total proteins, insulin, fasting glycemia (GLI), insulin homeostasis evaluation model of insulin resistance (HOMA-IR), low-density lipoprotein (LDL), high-density lipoprotein (HDL), total cholesterol (CT), triglycerides (TRI), speed of hemosedimentation (ESR), total leukocytes, platelets, hemoglobin) and EO (metabolites of nitric oxide (Nox), determination of advanced protein oxidation products (AOPP), plasma total antioxidant capacity (TRAP), determination of superoxide dismutase (SOD), determination of catalase (CAT), determination of glutathione peroxidase (Gpx), determination of paraoxonase-1 total activity (PON-1) and Sulfhydryl grouping (SH)), in addition to the evaluation of clinical data. The diagnosis of MS was made through the definition of NCEP-ATP III. **Results:** The group with CD/MS showed significant difference and higher values in relation to age, higher values of body mass index (BMI), abdominal circumference (AC), frequency of hypertension, DM and dyslipidemia than the group without MS. There was greater use of antihypertensive, hypoglycemic and lipid-lowering drugs in the group with MS. Levels of TRI, glucose (GLU), insulin and ALT, were increased in the CD/MS group. The OS, AOPP marker showed higher levels in the CD/MS group. Positive correlations were found between AOPP with TC, TRI, GLU, AST and ALT; Nox with TRI, GLU, AST and ALT; GSH with GLU; SH with ALB; SOD with insulin; PON1 total with hemoglobin and leukocytes. There were negative correlations between TRAP parameters with platelets; SH with leukocytes and ERS; CAT with hemoglobin, TRI, ALT. **Conclusion:** It was observed that patients with CD and MS showed changes in their OS markers, especially the AOPPs that proved to be a sensitive marker when compared to the influence of MS on the inflammatory state and OS in patients with CD.

Keywords: Obesity, Crohn's disease, Metabolic Syndrome, Oxidative Stress.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Inflamação e microbiota intestinal na doença de Crohn	25
Figura 2 – Mecanismo antioxidante de controle de EROs	26

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Índice de Atividade da Doença de Crohn (CAI)	21
Tabela 2 – Pontuação do índice endoscópico de gravidade da doença de Crohn (CDEIS) para avaliação da cicatrização da mucosa	22
Tabela 3 – Componentes da síndrome metabólica segundo o NCEP - ATP III	30

LISTA DE TABELAS DO ARTIGO

Tabela 1 – Analysis of clinical and anthropometric data between CD patients with and without MS	51
Tabela 2 – Analysis of biochemical and inflammatory data between CD patients with and without MS	53
Tabela 3 – Analysis of hematological data between CD patients with and without MS	54
Tabela 4 – Analysis of OS biomarkers between CD patients with and without MS	54
Tabela 5 – The Pearson correlation coefficient between metabolic and biochemical parameters correlated with the oxidant biomarkers of OS	56
Tabela 6 – The Pearson correlation coefficient between metabolic and biochemical parameters correlated with the antioxidant biomarkers of EO	57

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

1-DBSM	1ª Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica
AEHU	Ambulatório de Especialidades do Hospital Universitário
ALB	Albumina
ALT	Alanina Aminotransferase
AOPP	Produtos Avançados de Oxidação Proteica
AREase	Arilesterase
AST	Aspartato Aminotransferase
DC	Doença de Crohn
DII	Doença Inflamatória Intestinal
DM	<i>Diabetes Mellitus</i>
DMT2	<i>Diabetes Mellitus tipo 2</i>
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DTNB	Ácido 2,2-ditiobisnitrobenzóico
CAAE	Certificado de Apresentação de Apreciação Ética
CARD15	Caspase Recruitment Domain-Containing Protein 15
CAT	Determinação da Catalase
CDAI	Índice de Atividade da Doença de Crohn
CDEIS	Índice de Severidade Endoscópica da Doença de Crohn
CMPAse	Citidina Monofosfatase
CT	Colesterol Total
Cu ²⁺	Íon cobre (II)
EN	Estresse Nitrosativo
eNOS	Óxido Nítrico Sintase Endotelial
EO	Estresse Oxidativo
ERM	Enterografia por Ressonância Magnética
ERNs	Espécies Reativas de Nitrogênio
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
ETC	Enterografia por Tomografia Computadorizada
FOODMAP	Fermentáveis, Oligossacarídeos, Dissacarídeos, Monossacarídeos e Polióis

FOX	Ferrous Orange-Xylene
GLI	Glicemia em Jejum
GEDIIB	Grupo de Estudos da Doença Inflamatória Intestinal do Brasil
GETAID	Grupo de Estudo Terapeutico de Afecções Inflamatórias Digestivas
GPx	Glutathione Peroxidase
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade
H2O2	Peróxido de Hidrogênio
HOMA-IR	Modelo de Avaliação da Homeostase da Resistência à Insulina
IL-1	Interleucina-1
IL-6	Interleucina-6
IL-17	Interleucina-17
IL-22	Interleucina-22
iNOS	Óxido Nítrico Sintase induzida
IFN- γ	Interferon-gama
JNK	<i>Stress-activated protein kinases</i> / Proteínas quinases activadas pelo estresse
SAPK	Jun amino-terminal kinases
KI	Iodeto de Potássio
LDH	Lactato Desidrogenase
LDL	Lipoproteína de Baixa Densidade
LPS	Lipopolissacarídeos
MAPK	Proteína-Quinases Ativadas por Mitógenos
NADPH	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato Reduzido
NCEP-ATP III	Programa de Educação Nacional sobre Colesterol Adulto - Painel III de Tratamento
NF-K β	Fator Nuclear K β
NO	Óxido Nítrico
NO-	Nitroxil
NO ₂ -	Nitrito
NO ₃ -	Nitrato
NOD2	<i>Nucleotide-binding Oligomerization Domain-containing Protein 2</i>
NOS	Óxido Nítrico Sintase
NO _x	Metabólitos de Óxido Nítrico

ONOO-	Peroxinitrito
OMS	Organização Mundial da Saúde
O ₂ •-	Ânion Superóxido
OH•	Radical Hidroxila
PCR	Proteína C-Reativa
PI-3K	Fosfatidil Inusitol-3 Quinase
PKC	<i>Protein Kinase C</i> / Proteína Quinase C
PON-1	Paraoxonase-1
QL	Quimiluminescência
RCU	Retocolite Ulcerativa
RI	Resistência à Insulina
RM	Ressonância Magnética
RSNO	S-nitrosotiol
SH	Grupamento Sulfidrila
SBCP	Sociedade Brasileira de Coloproctologia
SM	Síndrome Metabólica
SOD	Determinação de Superóxido Dismutase
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Science</i>
Th1	T helper 1
Th17	T helper 17
TIBC	Capacidade Total de Ligação do Ferro
TRI	Triglicerídeos
TNB	Ácido 5-tio-2-nitrobenzóico
TNF-α	Fator de Necrose Tumoral alfa
TRAP	Capacidade Antioxidante Total Plasmática
UEL	Universidade Estadual de Londrina
US	Ultrassensível
USI	Ultrassom Intestinal
VCE	Videocápsula Endoscópica
VHS	Velocidade de Hemossedimentação
Zn ²⁺	Íon zinco(II)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	DESENVOLVIMENTO	15
2.1	EPIDEMIOLOGIA DA DOENÇA DE CROHN	15
2.2	DIAGNÓSTICO	17
2.3	FISIOPATOLOGIA DA DOENÇA DE CROHN	23
2.3.1	Inflamação e Doença de Crohn	24
2.3.2	Estresse Oxidativo e Doença de Crohn	25
2.3.3	Síndrome Metabólica e Doença de Crohn	29
3	JUSTIFICATIVA	33
4	OBJETIVOS	34
4.1	OBJETIVO GERAL	34
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	34
5	METODOLOGIA	35
5.1	ASPECTOS ÉTICOS	35
5.2	DELINEAMENTO DO ESTUDO E AMOSTRAGEM	35
5.3	DIAGNÓSTICO DE DOENÇA DE CROHN	35
5.4	DIAGNÓSTICO DE SÍNDROME METABÓLICA	37
5.5	COLETA DE MATERIAL BIOLÓGICO	37
5.6	PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E INFLAMATÓRIOS	37
5.7	PARÂMETROS DE EO E EN	38
5.7.1	Determinação dos produtos avançados de oxidação proteica (AOPP)	38
5.7.2	Determinação de metabólitos de óxido nítrico (NOx)	38
5.7.3	Grupamento Sulfidrila (SH)	39
5.7.4	Capacidade antioxidante total plasmática (TRAP)	39
5.7.5	Determinação da superóxido dismutase (SOD)	40
5.7.6	Determinação da catalase (CAT)	40
5.7.7	Determinação da glutiona peroxidase (Gpx)	40
5.7.8	Determinação da atividade da paraoxonase1 (PON-1)	40

5.8	Análise Estatística	41
6	RESULTADOS	42
7	CONCLUSÃO	72
8	CONSIDERAÇÕES FINAIS	73
	REFERÊNCIAS	74
	ANEXOS	81
	ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa	82

1 1 INTRODUÇÃO

2

3 A doença de Crohn (DC) é uma doença inflamatória recorrente que
4 afeta o trato gastrointestinal, incurável por tratamento clínico ou cirúrgico, podendo se
5 manifestar em qualquer ponto da boca ao ânus. A inflamação é progressiva, uni ou
6 multifocal, de intensidade variável e transmural que pode comprometer todos os
7 segmentos do trato gastrointestinal, sendo os mais comuns o íleo terminal e o cólon,
8 prejudicando o funcionamento intestinal e podendo levar a sua incapacidade. Até 25%
9 dos pacientes apresentarão complicações perianais, incluindo fissuras e fístulas,
10 também pode ocorrer manifestações extra intestinais associadas ou isoladas,
11 atingindo mais frequentemente a pele, olhos, articulações, vasos sanguíneos, fígado
12 e trato urinário (FEUERSTEIN; CHEIFETZ, 2017).

13 Os sintomas mais comuns são dores abdominais, diarreia crônica,
14 fadiga e perda de peso, principalmente em pacientes jovens (BAUMGART;
15 SANDBORN, 2012; TORRES et al., 2017). Inicialmente, a desnutrição era uma
16 característica predominante nesses indivíduos, devido à má absorção de nutrientes
17 decorrente de danos intestinais e cirurgias. No entanto, nas últimas décadas,
18 observou-se uma mudança drástica no perfil desses pacientes, com um aumento
19 notável na prevalência de obesidade. Isso tem sido associado a diversas
20 complicações adicionais, incluindo um maior risco de doenças cardiovasculares,
21 *Diabetes Mellitus* (DM) e complicações específicas da DC, como recidivas precoces,
22 doença perianal, hospitalizações frequentes e complicações pós-cirúrgicas (BACK et
23 al., 2017).

24 O tecido adiposo, tradicionalmente visto apenas como um local de
25 armazenamento de energia, emergiu como um órgão endócrino ativo com papel crítico
26 na síndrome metabólica (SM) e na regulação da inflamação. O acúmulo de gordura
27 visceral, marcante na obesidade e na DC, sugere uma conexão importante entre SM
28 e inflamação intestinal (BERTIN; DESREUMAUX; DUBUQUOY, 2010).

29 A SM, por sua vez, compreende uma diversidade de fatores de risco
30 cardiovascular, incluindo dislipidemia aterogênica, intolerância à glicose, hipertensão
31 arterial e obesidade visceral, todos fortemente associados à resistência à insulina (RI).
32 A presença da SM e de seus componentes aumenta o risco de complicações
33 relacionadas ao DM, promovendo um aumento precoce no risco de desenvolvimento
34 de doenças cardiovasculares e aterosclerose (HANNA-MAARIA et al., 2002).

1 A DC requer um diagnóstico clínico que integra anamnese dos sinais
2 e sintomas clínicos e históricos com dados objetivos de exames de imagem e
3 laboratoriais, incluindo a histopatologia. Assim que o diagnóstico for estabelecido, os
4 pacientes devem ser fenotipados de acordo com a classificação de Montreal e
5 rastreados para manifestações de doenças autoimunes associadas. A avaliação da
6 atividade da doença em combinação com fenótipo e recursos endoscópicos ajuda a
7 estratificar os pacientes e permite que os médicos escolham as melhores estratégias
8 terapêuticas, uma vez que esses fatores preditivos são importantes para o curso da
9 doença. Essas estratégias visam à remissão profunda e duradoura da doença, com
10 objetivo de evitar complicações, como cirurgia e impedir a progressão da doença
11 (BAUMGART; SANDBORN, 2012; TORRES et al., 2017).

12 A principal característica da DC é a inflamação que pode afetar todo
13 o trato gastrointestinal, apresentando períodos de crises e períodos de remissão
14 durante o curso da doença, um processo fortemente ligado à geração de metabólitos
15 reativos, como espécies reativas de nitrogênio (ERNs) e espécies reativas de oxigênio
16 (EROs). A primeira defesa contra os agentes oxidantes nas células é a produção de
17 antioxidantes; entretanto, quando há estresse oxidativo (EO) crônico os recursos das
18 defesas antioxidantes podem falhar e sua capacidade de produzir mais antioxidantes
19 é prejudicada (ALEMANY-COSME et al., 2021; TORRES et al., 2017).

20 Além da produção endógena, a exposição a EROs exógenas do
21 ambiente pode afetar o organismo. O EO ocorre quando há um desequilíbrio entre a
22 geração de EROs e a capacidade de defesa antioxidante do organismo que possui
23 defesas endógenas, como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione
24 (GSH), além de antioxidantes não enzimáticos, como ácido lipoico, ácido úrico e
25 bilirrubina. Também existem antioxidantes exógenos, como vitaminas E, A e C, que
26 podem ser administrados por via oral (BASÍLIO; DOS SANTOS; BRANCO, 2021).

27 No contexto da DC onde a absorção de nutrientes pode ser
28 prejudicada durante a fase aguda da doença, o monitoramento dos níveis séricos
29 desses antioxidantes é essencial. Isso destaca a importância de avaliar e
30 compreender o EO na DC, uma condição em que as EROs desempenham um papel
31 relevante.

32 Até o momento não é de nosso conhecimento, estudos que tenham
33 avaliado os pacientes portadores de DC com presença ou ausência de outros fatores
34 de risco de SM. Então esse estudo é importante porque avalia diversos parâmetros

1 metabólicos, inflamatórios e de EO nessa população e até o momento nenhum
2 trabalho evidenciou esses marcadores nessas condições. Portanto, o presente
3 trabalho teve como objetivo avaliar o estado redox em pacientes com DC e
4 correlacionar os parâmetros clínicos com os marcadores inflamatórios e de EO e
5 estresse nitrosativo (EN), avaliando a influência da presença de SM nestes pacientes.
6

7 **2 DESENVOLVIMENTO**

8 9 2.1 EPIDEMIOLOGIA DA DOENÇA DE CROHN

10

11 As doenças inflamatórias intestinais (DII), incluindo a DC, afetam
12 predominantemente pessoas jovens, com a maior taxa de incidência ocorrendo entre
13 a segunda e terceira décadas de vida. As taxas de DC não mostram uma diferença
14 significativa entre os gêneros masculinos e femininos, indicando uma distribuição
15 relativamente equilibrada entre os sexos. A ocorrência da DC é um processo contínuo,
16 com distribuição não homogênea em termos de incidência e prevalência pelo mundo
17 (BERNSTEIN; FRIED; KRABSHUIS et al, 2010).

18 Historicamente, as DII têm sido consideradas doenças predominantes
19 em populações desenvolvidas, com o estilo de vida ocidental desempenhando um
20 papel importante em sua incidência e prevalência elevadas em regiões como América
21 do Norte e Norte Europeu. Em países desenvolvidos, como os Estados Unidos,
22 Canadá e algumas nações europeias, a prevalência pode chegar a cerca de 120/130
23 casos por 100 mil habitantes (QUARESMA; KAPLAN; KOTZE, 2019; GASPARINI;
24 SASSAKI; SAAD-HOSSNE, 2018). No entanto, ao longo das décadas, tem-se
25 observado um aumento da incidência dessas doenças nos países em
26 desenvolvimento, similar ao que foi notado nas nações desenvolvidas, como Ásia,
27 América do Sul e sul e leste da Europa, sugerindo que as DII estão se tornando
28 doenças globais emergentes (PONDER; LONG, 2013; ANANTHAKRISHNAN, 2015).

29 No Brasil, a prevalência das DII varia de 13 a cerca de 53 casos por
30 cada 100 mil habitantes, dependendo da região e do estudo epidemiológico. Há uma
31 concentração mais significativa no Sudeste e Sul, correlacionada ao índice de
32 desenvolvimento humano e urbanização. A incidência média de DC e retocolite
33 ulcerativa (RCU) no Brasil é de aproximadamente 7 novos casos por 100 mil
34 habitantes, já a taxa de prevalência é de 24 casos para 100 mil habitantes para DC.

1 (QUARESMA; KAPLAN; KOTZE, 2019; GASPARINI; SASSAKI; SAAD-HOSSNE,
2 2018).

3 Um estudo realizado no estado do Paraná analisou uma população
4 composta por 4.931 pacientes (73,1%) diagnosticados com RCU e 1.817 pacientes
5 (26,9%) diagnosticados com DC. A DC foi mais prevalente em pacientes entre 11 e
6 30 anos, enquanto a RCU foi predominante em pacientes entre 40 e 80 anos. A RCU
7 foi mais frequente em pacientes do sexo feminino, enquanto a DC teve frequência
8 semelhante entre os sexos. A incidência das DII aumentou significativamente de
9 2,00/100.000 habitantes em 2010 para 13,77/100.000 habitantes em 2019. A
10 macrorregião leste, incluindo a 2ª Regional Curitiba, apresentou a maior incidência de
11 DII (RENUZZA et al., 2022).

12 No entanto, a obtenção de dados epidemiológicos precisos sobre a
13 DC é desafiadora devido à grande heterogeneidade dessa doença, variações nos
14 métodos diagnósticos disponíveis, diferenças na experiência dos profissionais
15 envolvidos e nos sistemas de informações e notificações de doenças em diferentes
16 regiões (M'KOMA, 2013).

17 A condução de estudos epidemiológicos sobre DC pode ser
18 particularmente difícil devido a possibilidade de esta doença ter um início gradual e da
19 assistência médica não ser acessada ao mesmo tempo, o que torna difícil determinar
20 os agentes que possivelmente atuaram no início da atividade da doença. A falta de
21 critérios universalmente aceitos para o diagnóstico das DII, e o fato de que o
22 diagnóstico diferencial é amplo, incluindo infecções intestinais, infestações intestinais
23 e doenças funcionais frequentemente encontradas na população de muitos países,
24 pode levar a erros de diagnósticos (VICTORIA; SASSAKI; NUNES, 2009).

25 Embora haja dados epidemiológicos limitados de países em
26 desenvolvimento, evidências apontam para um aumento na incidência e prevalência
27 da DC nesses locais, especialmente em sociedades mais urbanizadas e
28 industrializadas. Essa tendência tem impactado cada vez mais indivíduos jovens,
29 podendo ser relacionada ao estilo de vida sedentário e alimentação rica em alimentos
30 ultraprocessados e *fast foods*, indicando que a obesidade pode ser considerada um
31 fator de risco para o desenvolvimento da DC, mesmo após ajustes para outros fatores
32 de risco conhecidos, como idade, histórico de tabagismo, história familiar da doença
33 e história de apendicectomia. Portanto, a crescente associação entre DC e obesidade

1 requer atenção especial na abordagem clínica e no manejo desses pacientes
2 (MOLODECKY et al. 2012; ANIWAN; PARK; LOFTUS, 2017).

3

4 2.2 DIAGNÓSTICO

5

6 A DC é uma das principais DII, caracterizada por inflamação crônica
7 e recorrente em qualquer segmento do trato gastrointestinal. O diagnóstico preciso da
8 DC é essencial para o manejo clínico adequado e melhora da qualidade de vida dos
9 pacientes (GIULIA et al., 2020).

10 O diagnóstico definitivo da DC não pode ser estabelecido apenas com
11 sintomatologia de base, sendo necessários outros meios complementares para
12 auxiliar no diagnóstico diferencial. Foi demonstrada uma forte associação entre
13 determinados anticorpos e a DC, oferecendo uma abordagem promissora para a
14 confirmação diagnóstica. Além disso, os métodos radiológicos de imagem têm
15 desempenhado um papel crucial no diagnóstico da DC, permitindo não apenas
16 confirmar a presença da doença, mas também avaliar a extensão, gravidade e
17 possíveis complicações. Dessa forma, o diagnóstico da DC é inicialmente
18 fundamentado na história clínica, exame físico e testes laboratoriais, sendo
19 posteriormente confirmado e localizado por meio de exames radiológicos, como raio-
20 x de trânsito intestinal, tomografia e ressonância, e exames endoscópicos, como
21 colonoscopia, endoscopia alta e biópsia (GOMES; SANTOS; FERREIRA, 2010;
22 FREEMAN, 2014).

23 Os métodos de imagem desempenham um papel crucial no
24 diagnóstico da DC, permitindo a visualização direta das alterações intestinais. A
25 técnica de eleição para avaliar a extensão e a gravidade da doença é a colonoscopia
26 com ileoscopia. Além disso, a ressonância magnética (RM) com contraste é uma
27 ferramenta valiosa para identificar áreas afetadas no intestino delgado,
28 particularmente em casos em que a colonoscopia é insuficiente. Um estudo de alta
29 relevância, conduzido por Bruining et al. (2018), demonstrou que a RM com contraste
30 possui sensibilidade e especificidade superiores a 90% no diagnóstico de DC em
31 diversos segmentos do trato gastrointestinal.

32 A enterografia por tomografia computadorizada (ETC) e a enterografia
33 por ressonância magnética (ERM) são métodos de imagem cada vez mais utilizados
34 no diagnóstico da DC. Ambos os procedimentos requerem preparos orais com

1 contraste entérico diluído em água para distensão das alças entéricas, permitindo uma
2 avaliação detalhada das alterações murais e parentéricas (BRUINING et al., 2018).

3 A ETC é rápida, tem alta reprodutibilidade e maior disponibilidade,
4 mas possui limitações na caracterização tecidual e utiliza radiação ionizante. A ERM,
5 por sua vez, é mais demorada e menos acessível, porém oferece melhor resolução
6 tecidual, diferenciação entre atividade da doença e fibrose e não utiliza radiação
7 ionizante. A ERM permite a avaliação da resposta ao tratamento em camadas mais
8 profundas e estruturas adjacentes, sendo complementar à endoscopia. A combinação
9 de ETC e ileocolonoscopia tem alta sensibilidade e especificidade, mas pode não
10 detectar alterações em segmentos específicos. A ERM oferece maior confiabilidade e
11 precisão na detecção de alterações entéricas e perientéricas, fístulas, abscessos e
12 outras complicações (MAGALHÃES et al., 2023).

13 A pesquisa de biomarcadores séricos tem sido uma área de interesse
14 crescente no diagnóstico de DC. Entre os diversos biomarcadores estudados, as
15 concentrações séricas de proteína C reativa (PCR) e calprotectina fecal têm sido
16 amplamente investigadas. A PCR é um marcador de inflamação sistêmica e tem sido
17 associada à atividade da doença em pacientes com DC. Por outro lado, a calprotectina
18 fecal é específica para inflamação intestinal e pode auxiliar na distinção entre a DC e
19 a RCU. Um estudo conduzido por Roseth et al. (1999) mostrou que a calprotectina
20 fecal apresenta alta sensibilidade e especificidade na detecção de inflamação
21 intestinal, sendo útil no monitoramento e diagnóstico da DC (ROSETH; SCHMIDT;
22 FAGERHOL, 1999).

23 A endoscopia com cápsula é uma técnica inovadora que permite a
24 visualização do intestino delgado de forma não invasiva. A cápsula contém uma
25 câmera de vídeo de alta resolução que captura imagens enquanto atravessa o trato
26 gastrointestinal. Essa técnica é particularmente útil no diagnóstico de DC no intestino
27 delgado, que é uma área de difícil acesso para a colonoscopia convencional. Um
28 estudo relevante realizado por Eliakim et al. (2006), demonstrou que a endoscopia
29 com cápsula possui alta acurácia para identificar lesões intestinais em pacientes com
30 suspeita de DC.

31 O diagnóstico preciso da DC é essencial para o manejo adequado do
32 paciente. Os métodos de imagem, biomarcadores séricos e endoscopia com cápsula
33 são ferramentas valiosas no diagnóstico e monitoramento da DC. A combinação
34 dessas abordagens pode fornecer uma avaliação abrangente da extensão e da

1 atividade da doença, permitindo um tratamento mais direcionado e eficaz para os
2 pacientes com DC.

3 A classificação da DC envolve sua gravidade, extensão e
4 comportamento, sendo avaliada por índices como o Índice de Atividade da Doença de
5 Crohn (CDAI), comum em estudos clínicos. O CDAI, desenvolvido por Best et al.
6 (1976), é uma ferramenta amplamente utilizada para avaliar a atividade da doença.
7 Estes pesquisadores estabeleceram valores de estadiamento da doença, no qual o
8 limite entre doença em remissão e doença grave foi definido entre ≤ 150 e 350 pontos,
9 conforme demonstrado na Tabela 1 (IMBRIZI et al., 2023).

10 No entanto, o CDAI possui algumas limitações. Primeiramente, há
11 variabilidade na interpretação entre diferentes observadores. Além disso, o peso
12 atribuído aos itens "bem-estar geral" e "intensidade da dor abdominal" é relevante,
13 mas esses itens são subjetivos e refletem a percepção individual do paciente sobre
14 sua doença. Outra limitação é o fato de que o cálculo do CDAI é baseado em um diário
15 preenchido pelo paciente durante sete dias antes da avaliação, o que torna seu uso
16 inviável na prática clínica diária. O CDAI também não é preciso em pacientes com
17 quadros fistulizantes e estenossantes da doença. Além disso, não é útil em pacientes
18 que tenham passado por ressecções extensas do íleo e cólon ou que tenham estomas
19 anteriores (BEST et al., 1976).

20 Apesar dessas limitações, até o momento, o CDAI continua sendo o
21 índice mais utilizado em ensaios clínicos e é considerado o padrão-ouro para
22 avaliação da atividade da DC (PAPAY et al., 2013).

23 Em aproximadamente 30% dos casos de DC, ocorre um envolvimento
24 exclusivo do intestino delgado, o que apresenta desafios diagnósticos. Para esses
25 casos, endoscopia com cápsula, exames radiológicos seccionais ou ultrassom
26 intestinal (USI) são indicados. Quando sintomas obstrutivos estão presentes, a
27 realização da endoscopia com cápsula deve ser precedida por um exame radiológico
28 ou cápsula de patência para garantir a segurança da passagem. Essas abordagens
29 diagnósticas são cruciais para avaliar e monitorar a extensão da DC de forma precisa
30 (HOSSNE; COY, 2019).

31 Em 1989, o grupo francês *Groupe d'Etude Therapeutique des*
32 *Affections Inflammatoires Digestive* (GETAID) desenvolveu o Índice de Severidade
33 Endoscópica da Doença de Crohn (CDEIS) para medir a atividade endoscópica da
34 doença, conforme pode ser observado na Tabela 2. Embora os critérios de remissão

1 usando o CDEIS não estejam oficialmente validados, a resposta endoscópica
2 completa é geralmente considerada alcançada com valores menores do que 3 pontos
3 nesse índice. O CDEIS classifica a atividade da DC em diferentes níveis: remissão (<
4 3 pontos), atividade endoscópica leve (3 – 8 pontos), atividade endoscópica moderada
5 (9 – 12 pontos) e atividade endoscópica intensa (> 12 pontos). O CDEIS foi proposto
6 e validado em um grande estudo multicêntrico e atualmente é considerado o padrão-
7 ouro para avaliação da atividade endoscópica (Mary et al., 1989).

8 No entanto, a correlação entre o CDEIS e a atividade clínica da
9 doença parece ser fraca. Foi demonstrado cicatrização endoscópica em pacientes
10 tratados com azatioprina e infliximabe anti-Fator de Necrose Tumoral (anti-TNF- α) a
11 longo prazo. Além disso, pacientes que alcançam remissão endoscópica após o
12 tratamento com infliximabe mostram relatos iniciais de remissão mais duradoura e
13 menor número de eventos da doença. A cicatrização endoscópica está se tornando
14 um dos objetivos das novas terapias biológicas (SOSTEGNI et al., 2003).

15 Apesar de confiável e reprodutível, o CDEIS é um escore endoscópico
16 que requer tempo e transformação em escala analógica. Essas características tornam
17 sua utilização inadequada para a prática clínica diária e podem dificultar seu uso em
18 ensaios clínicos (MARY et al., 1989).

19 O padrão endoscópico da DC é notável por lesões descontínuas na
20 mucosa, incluindo úlceras profundas, fístulas, estenoses e envolvimento perianal. É
21 recomendada a realização de biópsias, com, pelo menos, dois fragmentos dos seis
22 segmentos do intestino avaliados, mesmo que pareçam normais a olho nu. Em
23 pacientes com sintomas no trato gastrointestinal superior ou na população pediátrica,
24 a endoscopia digestiva alta é apropriada e pode revelar características sugestivas,
25 como nodularidade da mucosa, úlceras aftoides/lineares e estenoses duodenais
26 (HOSSNE; COY, 2019).

27

28

29

30

31

32

33

34

1 **Tabela 1 - Índice de Atividade da Doença de Crohn (CDAI).**

Parâmetro	Descrição		Fator de ponderação
Número de evacuações líquidas ou moles	Soma de 7 dias anteriores		X2
Dor abdominal	Soma de 7 dias Anteriores	0= nenhum 1= leve 2= moderado 3= severo	X5
Bem-estar geral	Soma de 7 dias anteriores	0= excelente 1= bom 2= mal 3= muito ruim 4= terrível	X7
Complicações Extra intestinais	Número de complicações por categoria	Artrite/artralgia, irite/uveíte, eritema nodoso, pioderma gangrenoso, estomatite aftosa, fissura anal/ fístula/abcesso, febre > 37,8 °C	X20 (valor máximo = 120)
Drogas antidiarreicas	Uso nos últimos 7 dias	0= não 1= sim	X30
Massa abdominal		0= não 2= questionável 5= definido	X10
Hematócrito	Hct observado - esperado	Homens: 47 observados Mulheres: 42 observadas	X6
Peso corporal*: Desvio percentual do peso padrão (subtrair em vez de adicionar se o peso do doente for superior ao esperado)			
*Peso esperado ou ideal = altura (m) ² x 25,5= __ kg (homens) Altura (m) ² x 22,5= __ kg (mulheres)			
Pontuação total do CDAI: ≤ 150 = Remissão; 150-250 = Leve; 250-350 = Moderado; 350 = Grave			

2 Fórmula de cálculo: CDAI = (P1 x 2) + (P2 x 5) + (P3 x 7) + (P4 x 20) + (P5 x 30) + (P6 x 10) + (P7 x
3 6) + P8. Na fórmula, o último parâmetro (P8) não é multiplicado pelo "fator de ponderação", uma vez
4 que, neste parâmetro, o "fator de ponderação" é igual a 1. **Fonte:** Adaptado de R. SOSTEGNI et al.,
5 2003; IMBRIZI et al., 2023.

6

- 1 **Tabela 2** – Pontuação do índice endoscópico de gravidade da doença de Crohn (CDEIS)
 2 para avaliação da cicatrização da mucosa.

	Íleo	Cólon Direito	Transverso	Cólon esquerdo e sigmóide	Reto	Soma
Úlceras profundas (0 para nenhuma; 12 pontos se presente)						
Úlceras superficiais (0 para nenhuma; 6 pontos se presente)						
Superfície envolvida pela doença (cm)						
Superfície envolvida por ulceração (cm)						
						TOTAL A
					Número de segmentos explorados (1 a 5)	N
					Total B = A/n	TOTAL B
					Se presença de estenose ulcerada em qualquer parte adicionar +3	C
					Se presença de estenose não ulcerada em qualquer parte adicionar +3	D
						Total B+C+D= score CDEIS

- 3 <3 = remissão; 3-8 = leve atividade endoscópica; 9-12 = moderada atividade endoscópica; >12 =
 4 severa atividade endoscópica. **Fonte:** Adaptado de Marteau (2013).
 5
 6
 7
 8
 9
 10
 11
 12
 13

1 2.3 FISIOPATOLOGIA DA DOENÇA DE CROHN

2

3 A DC é caracterizada por inflamação crônica que afeta principalmente
4 o trato gastrointestinal, podendo ocorrer em qualquer parte do tubo digestivo, desde a
5 boca até o ânus. A fisiopatologia da DC é complexa e multifatorial, envolvendo
6 interações entre fatores genéticos, imunológicos, microbiológicos e ambientais.

7 Estudos têm demonstrado uma forte contribuição dos fatores
8 genéticos na predisposição à DC. Variantes genéticas em genes relacionados à
9 resposta imunológica, barreira epitelial, função de células epiteliais e processamento
10 de antígenos têm sido associadas ao desenvolvimento da doença. Por exemplo, o
11 gene *nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 2* (NOD2) e
12 *caspase recruitment domain-containing protein 15* (CARD15) são os mais estudados
13 e estão associados a um maior risco de desenvolver DC (HUGOT et al. 2001;
14 HENCKAERTS; VERMEIRE, 2007; MCGOVERN et al., 2001).

15 Além dos fatores genéticos, a disfunção do sistema imunológico
16 desempenha um papel crucial na patogênese da DC. Acredita-se que a resposta
17 imune inapropriada contra componentes da microbiota intestinal normal desencadeia
18 uma cascata de eventos inflamatórios. A ativação excessiva de células do sistema
19 imunológico, incluindo células T, células B, macrófagos e células dendríticas, leva à
20 produção aumentada de citocinas pró-inflamatórias, como o TNF- α , interleucina-1 (IL-
21 1) e interleucina-6 (IL-6) (BAUMGART; SANDBORN, 2012; NEURATH, 2014; GIULIA
22 et al., 2020; IQBAL et al., 2013).

23 A interação entre a microbiota intestinal e o sistema imunológico
24 também desempenha um papel importante na fisiopatologia da DC. Alterações na
25 composição da microbiota, com redução de espécies protetoras e aumento de
26 espécies patogênicas, têm sido observadas em pacientes com DC. A disbiose
27 resultante pode levar a uma resposta imune exacerbada e inflamação crônica no
28 intestino (MACHIELS et al., 2014).

29 Além disso, a disfunção da barreira intestinal e a permeabilidade
30 aumentada também estão envolvidas na fisiopatologia da DC. O aumento da
31 permeabilidade intestinal permite a translocação de antígenos microbianos e produtos
32 bacterianos para a parede intestinal, desencadeando uma resposta imune inflamatória
33 exacerbada (FASANO, 2011; STANGE; SCHROEDER, 2019)

34

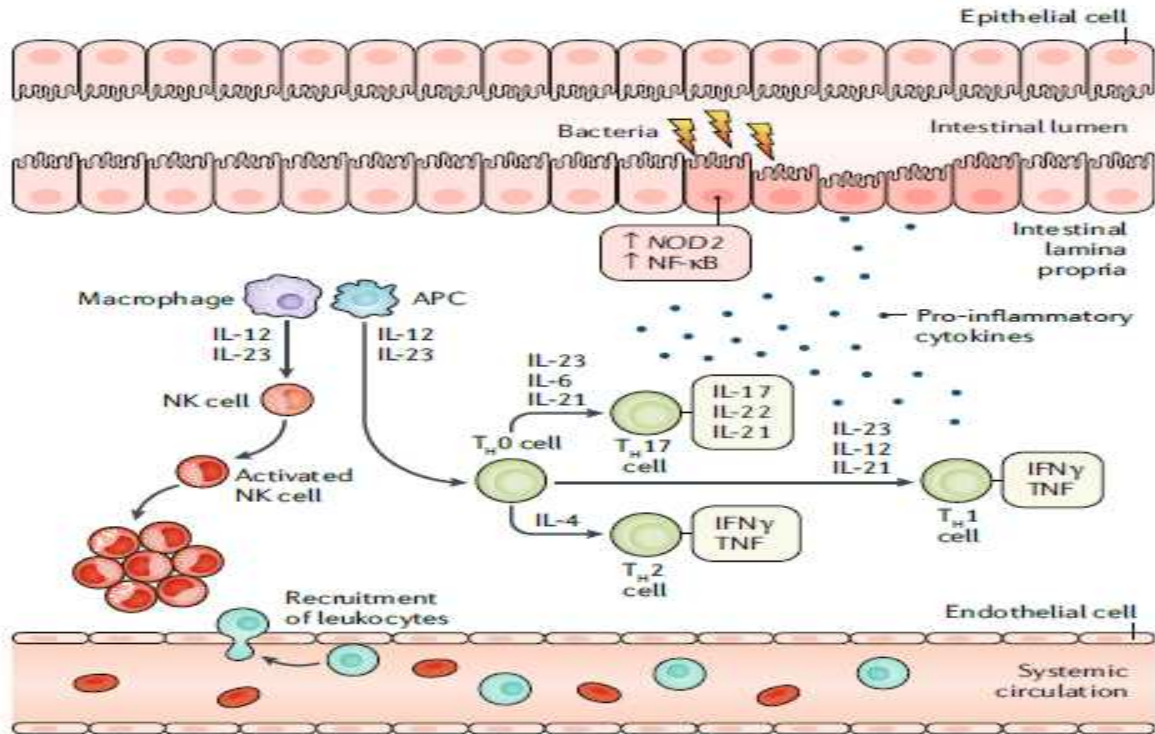
2.3.1 Inflamação e Doença de Crohn

A inflamação desempenha um papel crucial na patogênese da DC, sendo responsável pelos sinais clínicos e sintomas observados nos pacientes. A inflamação nesta doença é caracterizada por uma resposta imune desregulada, envolvendo múltiplas vias e células inflamatórias. Estudos têm demonstrado a presença de uma resposta imune exagerada, com aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias, como o TNF- α , IL-1 e IL-6, bem como quimiocinas que recrutam células inflamatórias para o local da inflamação (NEURATH, 2014; MEIJNIKMAN et al., 2018; REVOREDO et al., 2017).

A resposta imune desregulada na DC é mediada por células imunes, incluindo células T, células B, macrófagos e células dendríticas. As células T desempenham um papel fundamental na patogênese da DC, com a presença de uma resposta imune T helper-1 (Th1) e T helper-17 (Th17) exacerbada. Células Th1 produzem citocinas como o interferon-gama (IFN- γ) e o TNF- α , enquanto as células Th17 produzem interleucina-17 (IL-17) e interleucina-22 (IL-22), que contribuem para a inflamação crônica observada na doença. Além disso, as células B também são importantes na DC, produzindo anticorpos que podem agravar a inflamação intestinal, conforme pode ser observado na Figura 1 (MADDUR et al., 2012; RODA et al., 2020).

A resposta imune exacerbada, a disbiose intestinal e a disfunção da barreira intestinal desempenham papéis importantes na patogênese da doença. O entendimento dos mecanismos subjacentes à inflamação na DC é fundamental para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas visando o controle da inflamação e a melhora dos resultados clínicos.

1 **Figura 1 - Inflamação e microbiota intestinal na DC.**



2

3 TH0: T helper 0; TH1: T helper 1; TH17: T helper 17; TH2: T helper; IFNγ: Interferon gama; TNF: Fator
 4 de Necrose Tumoral; NK: Células Natural Killers; IL-4: Interleucina-4; IL-6: Interleucina-6; IL-17:
 5 Interleucina-17; IL-21: Interleucina-21; IL-22: Interleucina-22; IL-23: Interleucina-23; IL-12: Interleucina-
 6 12; APC: Célula Apresentadora de Antígeno. **Fonte:** RODA et al. (2020).

7

8 **2.3.2 Estresse Oxidativo e Doença de Crohn**

9

10 Sabe-se que o EO tem sido associado à fisiopatologia da DC. O EO,
 11 marcado pelo desequilíbrio entre a produção de EROs, ERNs e a capacidade
 12 antioxidante do organismo, desempenha um papel significativo na patogênese e
 13 progressão desta doença. A produção aumentada de EROs, incluindo radicais livres
 14 de oxigênio e peróxidos, é associada ao dano oxidativo em biomoléculas como
 15 proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos. Esse processo contribui para a inflamação
 16 crônica observada nesta doença conforme demonstrado na Figura 2
 17 (REZAI; PARKER; ABDOLLAHI, 2007).

18

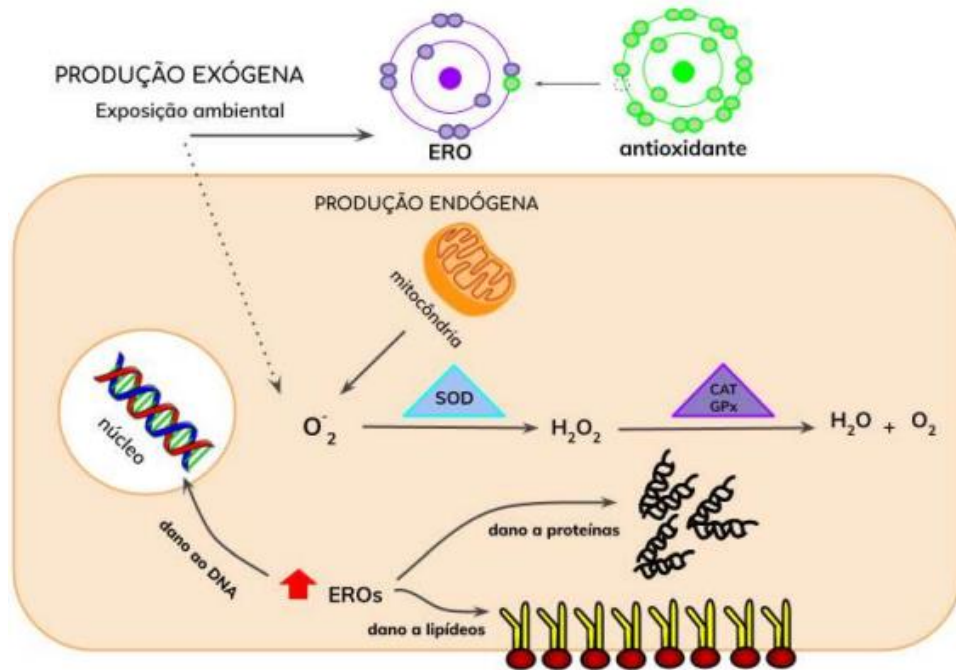
19

20

21

22

1 **Figura 2** - Mecanismo antioxidante de controle de EROs.



2
3
4
5
6
7

EROs: Espécies Reativas de Oxigênio; O_2 : Oxigênio; SOD: Superóxido Dismutase; H_2O_2 : Peróxido de Hidrogênio; CAT: Catalase; GPx: Glutationa Peroxidase; DNA: Ácido Desoxirribonucleico; OH^\bullet : Hidroxila. **Fonte:** BASÍLIO; DOS SANTOS; BRANCO (2021).

8 EROs são geradas como subprodutos naturais em sistemas
9 biológicos, sendo a mitocôndria um importante local intracelular de formação. Essas
10 moléculas desempenham papéis cruciais em processos biológicos, incluindo
11 diferenciação celular, apoptose, resposta imunológica e fosforilação proteica. EROs e
12 ERNs representam categorias distintas de oxidantes que afetam sistemas biológicos
13 vivendo em condições aeróbicas. As EROs incluem o $O_2^{\bullet-}$, peróxido de hidrogênio
14 (H_2O_2) e o radical hidroxila (OH^\bullet), surgindo da redução incompleta do oxigênio. Por
15 outro lado, as ERNs abrangem uma gama de estados de oxidação e produtos reativos
16 da atividade da NOS, como o NO, nitroxil (NO^-), S-nitrosotiol (RSNO) e peroxinitrito
17 ($ONOO^-$), resultado da interação entre NO e $O_2^{\bullet-}$. O aumento na produção desses
18 metabólitos pode causar danos às estruturas celulares essenciais (BASÍLIO; DOS
19 SANTOS; BRANCO, 2021; PITOCOCO et al., 2010).

20 Os produtos proteicos de oxidação avançada (AOPP) são derivados
21 de albumina, fibrinogênio e lipoproteínas modificadas por oxidação, formados
22 principalmente pelo sistema mieloperoxidase/ H_2O_2 /halogeneto em um ambiente de
23 EO. Os AOPP contêm ditirosina, grupos carbonila e ligações cruzadas, sendo
24 eliminados principalmente pelo fígado e baço. São reconhecidos como marcadores

1 de dano oxidativo, intensidade de EO e inflamação. Embora sejam formados em
2 pequenas quantidades durante a vida, suas concentrações aumentam com a idade.
3 Em condições patológicas, como SM e DC, as concentrações de AOPP são
4 significativamente mais altas, relacionando-se com desequilíbrio oxidante-
5 antioxidante e inflamação. A determinação dos níveis de AOPP é um método simples
6 e rápido, podendo ser útil como marcador para colaborar, juntamente com outros
7 marcadores, no diagnóstico e monitoramento de distúrbios (PIWOWAR, 2010).

8 Além de refletir o dano oxidativo proteico, os AOPPs desempenham
9 um papel ativo como mediadores do processo inflamatório, ativando células como
10 monócitos e neutrófilos. Destacando-se assim entre os outros marcadores geralmente
11 mensurados para refletir o OE, uma vez que podem desempenhar papéis cruciais na
12 fisiopatologia de várias doenças, inclusive na DC e na SM (WITKO-SARSAT et al.,
13 2003).

14 Na prática clínica, a determinação dos marcadores de EO é
15 desafiadora devido à rápida degradação e à baixa concentração desses compostos
16 nos fluidos biológicos. Os metabólitos mais estáveis do NO endógeno são o nitrito
17 (NO₂-) e o nitrato (NO₃-), acessíveis por análise quantitativa, tornando-se os métodos
18 mais adequados para avaliar a produção indireta de NO *in vivo*. A determinação
19 desses metabólitos em sangue e urina revelou-se eficiente para quantificar a produção
20 de NO. A espectrometria de massa é considerada o método mais preciso para essa
21 avaliação, embora outras técnicas analíticas, como cromatografia gasosa,
22 cromatografia líquida e eletroforese, também sejam utilizadas com eficácia (PITOCCO
23 et al., 2010).

24 O nível de ataque oxidativo às proteínas plasmáticas pode ser
25 avaliado pela quantificação da concentração plasmática dos grupamentos sulfidril
26 totais (SH). Esses grupamentos são encontrados na maioria das proteínas
27 plasmáticas, principalmente nos resíduos de cisteína, e são suscetíveis à oxidação
28 causada pela ação de radicais livres. No entanto, durante estados de inflamação
29 crônica, como na DC, o aumento da produção de radicais livres pode sobrecarregar o
30 sistema antioxidante, resultando na oxidação dos SH e, conseqüentemente, na perda
31 parcial ou total da sua capacidade de proteção contra o EO. Portanto, a quantificação
32 dos SH no plasma oferece uma estimativa sobre o nível de ataque oxidativo às
33 proteínas plasmáticas, evidenciando a intensidade do EO presente na DC e auxiliando

1 na compreensão do papel do sistema antioxidante nessa condição (FAURE; LAFOND,
2 1995).

3 A inflamação crônica presente na DC promove a ativação de células
4 inflamatórias, como macrófagos e neutrófilos, que liberam EROs para combater os
5 agentes patogênicos. No entanto, a liberação excessiva de EROs pode resultar em
6 danos às células intestinais e à mucosa intestinal. Além disso, a inflamação crônica
7 pode levar à redução das defesas antioxidantes do organismo, incluindo enzimas
8 antioxidantes como a SOD, que precisa de Íon cobre(II) (Cu^{2+}) e Íon zinco(II) (Zn^{2+})
9 como cofatores, onde ocorre a conversão do radical $\text{O}_2^{\bullet-}$ em H_2O_2 e oxigênio, através
10 da reação $2\text{O}_2^{\bullet-} + 2\text{H}^+ \xrightarrow[\text{Cu}^{+2}, \text{Zn}^{+2}]{\text{SOD}} \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$, enquanto a CAT transforma H_2O_2 em água e
11 oxigênio molecular nas hemácias, através da reação $2\text{H}_2\text{O}_2 \xrightarrow{\text{catalase}} 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$
12 e GPx, agravando ainda mais o EO (ZHU; LI, 2012; ROVER JÚNIOR et al., 2001).

13 O sistema enzimático de defesa, composto por SOD, CAT e GPx,
14 desempenha um papel essencial na prevenção de danos oxidativos. Essas enzimas
15 atuam para impedir a formação de radicais livres, incluindo o altamente reativo OH^{\bullet} ,
16 que não possui uma defesa enzimática especializada. CAT e GPx, em particular,
17 desempenham um papel crítico na neutralização do H_2O_2 , impedindo a geração do
18 OH^{\bullet} . Esse radical reativo é conhecido por sua instabilidade e potencial para iniciar a
19 peroxidação lipídica, afetar proteínas e induzir mutações no DNA. Destaca-se a
20 importância da GPx na manutenção do equilíbrio redox da glutathiona, fundamental
21 para preservar a integridade celular diante da ameaça dos radicais livres. O cuidadoso
22 equilíbrio entre essas enzimas antioxidantes é crucial para a homeostase celular e a
23 prevenção eficaz de danos oxidativos (BARBOSA et al, 2010).

24 Segundo Vermeire et al. (2017) existe implicação de polimorfismos
25 em genes que codificam enzimas antioxidantes no desenvolvimento da DC. Por
26 exemplo, variantes genéticas que afetam a atividade da SOD e da GPx têm sido
27 associadas ao risco aumentado de desenvolver a doença. Esses polimorfismos
28 podem influenciar a capacidade do organismo em neutralizar as EROs e contribuir
29 para a instalação do EO em pacientes com DC.

30 A enzima paraoxonase (PON), envolvida no transporte reverso do
31 colesterol, desempenha um papel crucial no efeito antioxidante e anti-inflamatório da
32 Lipoproteína de Alta Densidade (HDL-C). Essa enzima contribui para a redução do
33 acúmulo de produtos de peroxidação lipídica e detoxificação da homocisteína
34 tiolactona, um subproduto do metabolismo da homocisteína associado a alterações

1 proteicas e aterosclerose. Níveis diminuídos de PON são observados em diversas
2 condições patológicas, incluindo câncer, doença arterial coronariana,
3 hipercolesterolemia, DMT2, anemia ferropriva, doenças neurológicas, retinopatia
4 diabética e maior susceptibilidade aos danos advindos da intoxicação por
5 organofosforados. Essas associações destacam a importância da PON na proteção
6 contra processos inflamatórios e no metabolismo lipídico (VELLOSA et al, 2013).

7 Além disso, a inflamação crônica e o EO estão fortemente
8 relacionados à disfunção da barreira intestinal na DC. A integridade da barreira
9 intestinal é essencial para evitar a translocação de bactérias e toxinas do lúmen
10 intestinal para a lâmina própria, prevenindo assim a ativação exacerbada do sistema
11 imunológico. A ativação do fator nuclear Kb (NF-Kb) devido ao EO também pode
12 induzir a expressão de proteínas de junção de oclusão, como a ocludina e a claudina-
13 1, resultando em alterações na permeabilidade intestinal, o que favorece a passagem
14 de agentes patogênicos e moléculas inflamatórias para a lâmina própria. Ainda, o EO
15 pode afetar a atividade das células epiteliais intestinais e células imunes, promovendo
16 uma resposta inflamatória exacerbada no intestino (ANTONI et al., 2014;
17 PASTORELLI et al., 2013).

18 O EO desempenha um papel relevante na fisiopatologia da DC,
19 contribuindo para a inflamação crônica, dano oxidativo às células intestinais, disfunção
20 da barreira intestinal e progressão da doença. O desequilíbrio entre a produção de
21 EROs e a capacidade antioxidante do organismo pode ser influenciado por fatores
22 genéticos e pela inflamação crônica presente na doença. O entendimento do papel do
23 EO na DC pode fornecer novas abordagens terapêuticas visando o restabelecimento
24 do equilíbrio redox e a redução da inflamação intestinal.

25

26 **2.3.3 Síndrome Metabólica e Doença de Crohn**

27

28 A SM é um conjunto de condições clínicas inter-relacionadas como
29 obesidade abdominal, RI, hipertensão arterial e dislipidemia, que aumentam o risco
30 de doenças cardiovasculares e assim aumentam o risco de mortalidade (PENALVA,
31 2008).

32 O estudo da SM enfrenta desafios devido à falta de consenso em sua definição e nos
33 critérios específicos para seus componentes, o que influencia a prática clínica e as
34 políticas de saúde. Duas definições importantes foram estabelecidas pela

1 Organização Mundial da Saúde (OMS) e pelo Programa de Educação Nacional sobre
 2 Colesterol Adulto - Painel III de Tratamento (NCEP-ATP III). A definição da OMS
 3 começa com a avaliação da RI ou distúrbios no metabolismo da glicose, tornando sua
 4 aplicação mais complexa. Em contraste, a definição do NCEP-ATP III foi
 5 desenvolvida para facilitar a utilização clínica, não exigindo a confirmação da RI, mas
 6 sendo representada por uma combinação de ≥ 3 componentes dos apresentados na
 7 Tabela 3. Sendo assim, a NCEP-ATP III é a definição recomendada pela I Diretriz
 8 Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica (1-DBSM, 2005).

9
 10 **Tabela 3** - Componentes da síndrome metabólica segundo o NCEP - ATP III

Componentes		Níveis
Obesidade abdominal por meio de circunferência abdominal		
	Homens	> 102 cm
	Mulheres	> 88 cm
Triglicerídeos		≥ 150 mg/dL
HDL Colesterol	Homens	< 40 mg/dL
	Mulheres	< 50 mg/dL
Pressão arterial		$\geq 130/85$ mmHg ou uso de anti-hipertensivos
Glicemia de jejum		≥ 100 mg/dL
A presença de <i>Diabetes mellitus</i> tipo 2 não exclui o diagnóstico de SM		

11 **Fonte:** Adaptado de THOMAS et al. (2005).

12
 13 A presença da SM está fortemente ligada à maior mortalidade
 14 cardiovascular, sendo a RI um ponto comum. A progressão da RI para o *Diabetes*
 15 *Mellitus tipo 2* (DMT2) está associada à disfunção endotelial e aterosclerose.
 16 Componentes da SM, como níveis lipídicos desfavoráveis e hipertensão arterial
 17 também estão relacionados à disfunção endotelial. A insulina, em concentrações
 18 fisiológicas, é vasodilatadora e regula a produção de óxido nítrico (NO). Contudo, na
 19 presença de RI, há defeitos na via da fosfatidil inusitol-3 quinase (PI-3K), levando a
 20 alterações pró-aterogênicas, enquanto a via da proteíno-quinases ativadas por
 21 mitógenos (MAPK) pode se tornar hiperativada, contribuindo para a disfunção

1 vascular. Achados clínicos indicam que os defeitos associados à SM estão
2 relacionados a um defeito específico na via de sinalização da PI-3K. Esses achados
3 apontam para uma compreensão mais precisa das bases moleculares da
4 aterosclerose relacionada à SM e RI, fundamental para abordagens terapêuticas
5 (BAHIA et al, 2006).

6 Os estados de RI estão associados ao aumento da produção de
7 EROs, resultando em EO, que desempenha um papel na patogênese da RI. O EO
8 influencia a disfunção endotelial, sendo gerado principalmente por complexos
9 enzimáticos como as Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato Reduzido-oxidases
10 (NADPH) oxidases e a óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) desacoplada. A eNOS,
11 crucial para a síntese de NO, pode se desacoplar na ausência de co-fatores,
12 diminuindo a biodisponibilidade de NO (BAHIA et al, 2006). Ratos com RI apresentam
13 redução de tetra-hidrobiopterina, levando a um desacoplamento da eNOS e aumento
14 da produção de superóxido, resultando em disfunção endotelial. O ânion superóxido
15 ($O_2^{\bullet-}$) reage rapidamente com o NO, formando peroxinitrito ($ONOO^-$), uma espécie
16 reativa que danifica o ácido desoxirribonucleico (DNA) e induz o desacoplamento
17 contínuo da eNOS, amplificando o dano endotelial. A compreensão desses
18 mecanismos é vital para a abordagem terapêutica da RI e suas complicações
19 associadas (SHINOZAKI et al. 2000).

20 A alteração na diversidade da microbiota intestinal tem emergido
21 como um fator relevante no desenvolvimento de distúrbios metabólicos e
22 inflamatórios, incluindo a obesidade. O estado inflamatório crônico, associado à
23 obesidade, é proposto como um fator determinante no desenvolvimento da RI,
24 afetando a sensibilidade à insulina nos músculos e no tecido adiposo, assim como
25 prejudicando a função pancreática. A hipótese de endotoxemia metabólica destaca a
26 translocação de toxinas bacterianas, como a endotoxina, do trato gastrointestinal para
27 a circulação sanguínea, contribuindo para a inflamação. Concentrações elevadas de
28 Lipopolissacarídeos (LPS), marcador de endotoxemia, foram observadas em
29 pacientes com DMT2. A permeabilidade intestinal aumentada, influenciada pela dieta,
30 facilita a translocação de toxinas, indicando que mudanças na microbiota podem
31 afetar o estado inflamatório associado à obesidade e DMT2 (LONE et al., 2018;
32 MEIJNIKMAN et al., 2018).

33

34

1 3 JUSTIFICATIVA

2

3

4

5

6

7

Considerando o papel crucial da inflamação e do EO na fisiopatologia da DC, aliado ao fato da dificuldade de se estabelecer o estadiamento da doença, diversos estudos têm mostrado que marcadores laboratoriais de inflamação e de EO poderiam auxiliar neste processo, além de serem pouco invasivos e com custos relativamente baixos.

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

A presença de biomarcadores de EO em pacientes com DC associado à presença ou não de SM, aponta para um desequilíbrio pró-oxidante no ambiente intestinal, sugerindo sua contribuição para a patogênese e progressão da doença. A análise detalhada do desequilíbrio redox, por meio de testes que avaliam as EROs, ERNs e as defesas antioxidantes poderiam fornecer informações valiosas sobre a atividade da doença, a gravidade dos sintomas e a eficácia dos tratamentos. Portanto, ao comparar pacientes com DC com e sem SM, será possível investigar fatores influenciadores cruciais e identificar possíveis ligações entre essas duas condições, o que pode levar a avanços significativos na compreensão da fisiopatologia da DC e no desenvolvimento de abordagens terapêuticas mais eficazes.

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

34

1 **4 OBJETIVOS**

2

3 **4.1 OBJETIVO GERAL**

4

5 Analisar e comparar os níveis de biomarcadores bioquímicos,
6 inflamatórios e de EO e EN entre dois grupos de pacientes com DC portadores ou não
7 de SM.

8

9 **4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

10 Avaliar os parâmetros clínicos, antropométricos, bioquímicos,
11 inflamatórios e hematológicos dos pacientes com DC com presença ou não de SM.

12 Quantificar parâmetros oxidantes e das defesas antioxidantes dos
13 pacientes com DC e SM e sem SM.

14 Correlacionar os parâmetros antropométricos, inflamatórios com os
15 marcadores de EO nos pacientes com DC.

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

34

1 **5 METODOLOGIA**

2

3 **5.1 ASPECTOS ÉTICOS**

4

5 O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo
6 Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina (UEL) (CAAE.
7 91833018.2.0000.5231), parecer CEP/UEL nº 2.767.257 (Anexo A). Os indivíduos
8 foram convidados a participar voluntariamente da pesquisa e assinaram um termo de
9 consentimento livre e esclarecido. Este estudo foi conduzido de acordo com as
10 diretrizes estabelecidas na Declaração de Helsinque.

11

12 **5.2 DELINEAMENTO DO ESTUDO E AMOSTRAGEM**

13

14 Trata-se de um estudo transversal onde foram selecionados 87
15 indivíduos com diagnóstico de DC, os quais foram divididos em dois grupos: 1- DC
16 com SM (n=24), 2- DC sem SM (n=63) atendidos pelo ambulatório de
17 Gastroenterologia do Ambulatório de Especialidades do Hospital Universitário de
18 Londrina, no período compreendido entre junho de 2018 a maio de 2019.

19 Foram incluídos no estudo indivíduos de ambos os sexos (homens =
20 37) e (mulheres = 50), com idade entre 18 e 76 anos. Informações referentes a estilo
21 de vida e histórico médico foram obtidas a partir de avaliação clínica de cada paciente
22 e do prontuário eletrônico por meio do *software* Medview. Foram considerados
23 critérios de exclusão em ambos os grupos os seguintes fatores: idade abaixo de 18
24 anos, presença de doenças autoimunes, doenças cardiovasculares, doença renal
25 crônica, doença hepática crônica, neoplasias e doenças infecciosas agudas ou
26 crônicas, uso de antioxidantes.

27

28 **5.3 DIAGNÓSTICO DE DOENÇA DE CROHN**

29

30 O diagnóstico da DC foi estabelecido por meio de uma abordagem
31 clínica abrangente, que envolveu a avaliação combinada de investigações
32 endoscópicas, histológicas e bioquímicas. Essa estratégia diagnóstica foi adotada
33 com base nas diretrizes do terceiro consenso europeu, que é fundamentado em
34 evidências científicas e fornece diretrizes atualizadas para o diagnóstico e manejo da

1 DC. A combinação desses diferentes métodos de investigação permite uma
2 abordagem holística para o diagnóstico preciso da DC e auxilia na diferenciação entre
3 a DC e outras condições com sintomas semelhantes (GOMOLLÓN et al., 2017).

4 Na avaliação clínica da DC, foram considerados diversos sintomas
5 como aumento da frequência e alteração da consistência das fezes, presença de
6 diarreia com muco e sangue, dor abdominal, tenesmo (sensação de esvaziamento
7 incompleto), urgência fecal, bem como a presença de febre, fadiga e perda de apetite.
8 Também foram levados em conta fatores como o uso prévio de certos medicamentos,
9 história de doenças infecciosas intestinais, antecedentes familiares de DC ou RCU e
10 câncer colorretal, bem como a presença de manifestações extra intestinais, tais como
11 envolvimento reumatológico, dermatológico, oftálmico, entre outros. Foi realizado a
12 vídeo colonoscopia com ileoscopia ou videorretos sigmoidoscopia (videocolonoscopio
13 EC-250HL5-sistema EPX 2500 Fujinon, Tóquio, Japão) dos pacientes para avaliação
14 da atividade endoscópica da DC com preparo intestinal prévio com manitol a 20%
15 conforme já realizado de acordo com protocolo do serviço do ambulatório de
16 Gastroenterologia do Ambulatório de especialidades do Hospital Universitário
17 (AEHU). A videocolonosopia permite visualização da mucosa de reto, cólon e íleo
18 terminal (SHERGILL et al., 2015).

19 Na avaliação da atividade da DC foi utilizado o CDAI para avaliar a
20 atividade clínica (BEST et al., 1976). Para a avaliação endoscópica de atividade da
21 DC foi utilizado o CDEIS (FAUSEL; KORNBLUTH; DUBINSKI, 2016).

22 Na análise histopatológica, o diagnóstico microscópico da DC baseou-
23 se no encontro de inflamação crônica focal e descontínua, irregularidade focal de
24 criptas e granulomas (não relacionado à lesão de criptas). As mesmas características
25 em adição com irregularidade arquitetural vilosa podem ser utilizadas para as
26 amostras do íleo terminal (GOMOLLÓN et al., 2017).

27 Como métodos complementares para avaliação da extensão e
28 localização da DC no intestino delgado, foram realizadas radiografias contrastadas de
29 morfologia de intestino delgado e enterografia por tomografia computadorizada
30 (GOMOLLÓN et al., 2017).

31

32

33

34

1 5.4 DIAGNÓSTICO DE SÍNDROME METABÓLICA

2

3

4 O diagnóstico da SM foi feito por meio da definição do NCEP-ATP III,
5 representada por uma combinação de pelo menos três dos seguintes componentes:
6 obesidade abdominal por meio de circunferência abdominal (homens > 102cm/
7 mulheres > 88cm); triglicerídeos \geq 150mg/dL; HDL colesterol (homens < 40mg/dL/
8 mulheres < 50 mg/dL); pressão arterial (\geq 130 mmHg ou \geq 85 mmHg); glicemia de
9 jejum (\geq 100 mg/dL).

9

10 5.5 COLETA DE MATERIAL BIOLÓGICO

11

12

13 Após um período de jejum de 12 horas, os indivíduos foram
14 submetidos à coleta de 13mL de sangue por punção venosa: 6 mL em tubos com
15 vácuo (VACUETTE®) contendo EDTA para a realização dos parâmetros leucócitos
16 totais, neutrófilos, plaquetas, determinação das atividades enzimáticas da SOD, CAT,
17 GPx e 7mL de sangue em tubos com vácuo (VACUETTE®) sem anticoagulante para
18 a realização dos marcadores bioquímicos e inflamatórios (CRE, AST, ALT, PCR,
19 ferritina, ferro sérico, ALB, VHS, PTN totais, insulina, GLI, HOMA-IR, LDL, HDL, CT,
20 TRI, leucócitos totais, plaquetas e hemoglobina) e marcadores de EO (AOPP, NOx,
21 SH, TRAP, PON1). Para os testes de EO as amostras foram separadas e
22 armazenadas a -80°C até o momento das análises, os demais testes foram feitos no
23 dia da coleta.

23

24 5.6 PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E INFLAMATÓRIOS

25

26

27 Foram realizadas análises laboratoriais de parâmetros bioquímicos,
28 incluindo LDL (foi calculado pela equação de Friedwald/ $LDL = CT - (HDL + TRI/5)$), CT,
29 HDL, TRI, GLI, AST, ALT, CRE, PTN totais, albumina, ferro (realizados no Sistema de
30 Química Clínica Dimension® EXL 200 da Siemens, utilizando os cartuchos de
31 reagentes Flex®), insulina foi determinada por ensaio imunológico de micropartículas
32 de quimiluminescência (CMIA, ARCHITECT; Abbott Laboratory, Abbott Park, IL), o
33 cálculo do HOMA-IR foi realizado utilizando a fórmula (insulina mUI/L x glicemia
mmol/L/402) para avaliar a RI dos participantes, segundo HAFFNER et al. (1996),

1 PCR (utilizando o equipamento Architect® c8000 da Abbott, com o reagente
2 MULTIGENT CRP Vario), ferritina (analisada no Alinity i analyzer da Abbott, utilizando
3 o Alinity i Ferritin Reagent). Além disso, os parâmetros hematológicos, incluindo
4 leucócitos, plaquetas, VHS (analisados no analisador Yumizen H1500 da Horiba).
5 Todas as análises seguiram as recomendações dos fabricantes para garantir a
6 precisão e a consistência dos resultados.

7

8 5.7 PARÂMETROS DE EO E EN

9

10 **5.7.1 Determinação dos produtos avançados de oxidação proteica (AOPP).**

11

12 As concentrações plasmáticas de AOPP foram determinadas
13 utilizando o método de colorimetria semiautomatizado descrito por Hanasand et al.
14 (2012). Neste método, o reagente é preparado com iodeto de potássio (KI) a 1,16 M
15 em água deionizada e ácido acético para análise. As amostras de soro são diluídas
16 1:5 com uma solução de PBS. Em seguida, uma curva de calibração é construída
17 utilizando padrões com concentrações de 6.25, 12.5, 25, 50 e 100 μmol , conhecidas
18 de AOPP. Após a adição dos reagentes e amostras, a leitura foi feita em uma leitora
19 de microplacas, modelo EnSpire da marca Perkin Elmer®, no comprimento de onda
20 de 340 nm. As concentrações de AOPP foram expressas em micromoles por litro
21 ($\mu\text{mol/L}$) de equivalentes de cloramina.

22

23 **5.7.2 Determinação de metabólitos de óxido nítrico (NOx).**

24

25 A quantificação dos subprodutos de NOx no soro foi realizada através
26 da determinação da concentração de nitritos. O NO é uma molécula instável que se
27 degrada rapidamente em nitratos e nitritos no soro. Para quantificar o NO, foi utilizado
28 um método baseado na redução de nitratos a nitritos. Essa reação ocorre entre o
29 nitrato na amostra e um sistema de reagentes cádmio-cobre, seguido por uma etapa
30 de diazotação e detecção colorimétrica do azocomposto formado com o reagente de
31 Griess. A concentração de NOx foi medida em uma leitora de microplaca da Perkin
32 Elmer® a 540 nm e expressa em μM . O método de detecção de nitritos utilizado foi
33 considerado confiável e sensível para avaliar os níveis de NO, fornecendo
34 informações relevantes sobre a produção de NO em diferentes contextos fisiológicos

1 e patológicos. Esse método foi baseado em pesquisas anteriores descritas por
2 Navarro-González, García-Benayas e Arenas (1998) e Panis et al. (2011).

3

4 **5.7.3 Grupamento Sulfidrila (SH).**

5

6 O método de colorimetria descrito por Hu (1994), adaptado para
7 microplaca por Taylan e Resmi (2010), foi utilizado para determinar a concentração
8 sérica de SH. Esses grupos estão associados a proteínas, como a albumina, e
9 ocorrem em compostos não protéicos, como glutatona e cisteína livre. A reação entre
10 os grupos SH e o ácido 2,2-ditiobisnitrobenzóico (DTNB) resulta na formação de ácido
11 5-tio-2-nitrobenzóico (TNB), que possui uma cor amarela detectável por
12 espectrofotometria a 412 nm. A redução da concentração de grupos SH plasmáticos
13 pode indicar danos oxidativos, sendo geralmente reduzida em pacientes com doenças
14 como doença arterial coronariana e artrite reumatóide.

15

16 **5.7.4 Capacidade antioxidante total plasmática (TRAP).**

17

18 A TRAP foi avaliada por meio da técnica de quimiluminescência (QL),
19 adaptada do método descrito por Repetto et al. (1996). Essa metodologia permite a
20 detecção de antioxidantes hidro e lipossolúveis presentes no plasma. O ensaio foi
21 realizado adicionando-se ao meio de reação (1,8 mL de tampão glicina 0,1 M, pH 8,6)
22 100 µL de luminol em solução aquosa 200 µM, 5 µL de soro diluído 50% em tampão
23 glicina e 100 µL de solução aquosa de 2,2' azo-bis (2-amidinopropano) 200 mM, que
24 reage com os radicais livres gerados durante a oxidação de lipídeos e proteínas,
25 produzindo quimiluminescência. A reação é inibida pela ação de enzimas
26 antioxidantes, como a SOD, a CAT e análogos da vitamina E. A adição do plasma ao
27 meio de reação reduz a quimiluminescência, e o tempo necessário para a recuperação
28 dos níveis iniciais de quimiluminescência é proporcional à TRAP.

29

30 Para quantificar a TRAP, o sistema foi calibrado utilizando um análogo
31 de vitamina E chamado Trolox. O tempo de indução após a adição de concentrações
32 conhecidas de Trolox e plasma permite obter valores de TRAP em equivalentes de
33 Trolox. Os resultados foram expressos em micromoles de Trolox. Esse experimento
34 foi conduzido em uma leitora Victor® - Perkin Elmer, utilizando um modo de contagem
não coincidente por 30 minutos, com uma faixa de resposta entre 300 e 620 nM.

1 **5.7.5 Determinação da superóxido dismutase (SOD).**

2
3 A atividade da enzima SOD nos eritrócitos foi determinada utilizando
4 o método do pirogalol descrito por Marklund e Marklund (1974). Esse método se
5 baseia na capacidade da SOD em inibir a oxidação do pirogalol, que é monitorada por
6 meio da leitura da reação em uma leitora de microplacas no comprimento de onda de
7 420 nm, utilizando o modelo EnSpire da marca Perkin Elmer®. Os resultados da
8 atividade da SOD foram expressos em unidades por miligrama de hemoglobina
9 (U/mgHb). A SOD desempenha um papel crucial na proteção das células contra o EO,
10 convertendo o $O_2^{\bullet-}$ em H_2O_2 e oxigênio (MCCORD; FRIDOVICH, 1969).

11 12 **5.7.6 Determinação da catalase (CAT).**

13
14 A atividade da enzima CAT foi analisada por meio da medida do
15 decaimento na concentração de H_2O_2 e da geração de oxigênio. Esse método é
16 baseado na técnica descrita por Aebi (1984). A reação da CAT foi lida em uma leitora
17 de microplacas, no comprimento de onda de 240 nm, utilizando o modelo EnSpire da
18 marca Perkin Elmer®. Os resultados da atividade da CAT foram expressos em
19 unidades por miligrama de hemoglobina (U/mgHb). A CAT desempenha um papel
20 importante na proteção das células contra o EO, convertendo o H_2O_2 em água e
21 oxigênio (KONO, 1978).

22 23 **5.7.7 Determinação da glutathiona peroxidase (Gpx).**

24
25 A atividade da enzima GPx foi determinada utilizando o método
26 descrito por Sies (1999). Nesse método, a atividade da GPx é medida pelo decréscimo
27 de absorvância resultante da oxidação do NADPH durante a redução da glutathiona
28 oxidada catalisada pela glutathiona redutase. A leitura da absorvância foi realizada em
29 uma leitora de microplacas no comprimento de onda de 340 nm, a uma temperatura
30 de 30°C.

31
32
33
34

1 **5.7.8 Determinação da atividade da paraoxonase1 (PON-1).**

2
3 A atividade da enzima PON-1 total foi determinada, utilizando o
4 método descrito por Richter et al. (2008). A leitura da reação foi realizada em uma
5 leitora de microplacas Perkin Elmer®, modelo EnSpire (Waltham, MA, EUA), utilizando
6 um comprimento de onda de 270 nm, em diferentes condições de concentração de
7 sal. O procedimento consistiu em realizar 16 leituras com intervalos de 15 segundos
8 entre elas, durante um período de 4 minutos, com a temperatura mantida a 25°C. A
9 atividade total da PON-1 foi expressa em unidades por mL (U/mL).

10 11 **5.8 Análise Estatística**

12
13 A análise estatística dos dados foi feita pelos testes de Shapiro-Wilk
14 e Levene, para avaliação da distribuição dos dados e homogeneidade,
15 respectivamente. A análise de tabelas de contingência (teste χ^2) foi empregada para
16 avaliar as associações entre variáveis categóricas, enquanto a análise de variância
17 (ANOVA) foi empregada para avaliar diferenças em variáveis contínuas entre os
18 grupos de tratamento. Análise entre os grupos com e sem SM foi realizado o teste
19 One-Way Anova ou teste de Mann-Whitney. A correlação das variâncias foi realizada
20 pelo teste de Correlação de Pearson. O valor $p < 0,05$ foi utilizado para significância
21 estatística. As análises estatísticas foram realizadas no IBM *Statistical Package for*
22 *the Social Science* (SPSS) Windows versão 25.

1 **6 RESULTADOS**

2 Influence of Metabolic Syndrome on the Inflammation and Redox State in 3 Patients with Crohn's Disease.

4

5 Allexya Soares de Carvalho^a; Juliana Emilia Monteiro Bueno^a; Bruno Moraes de
6 Oliveira^a; Tawane Dancini Arduan^b; Andressa Keiko Matsumoto^c; Andrea Name
7 Colado Simão^c; Danielle Venturini^{a,c}

8 ^aPostgraduate Program in Clinical and Laboratory Pathophysiology, State University of Londrina, Brazil.

9 ^b Undergraduate student in Pharmacy, State University of Londrina, Brazil

10 ^cClinical Analysis Laboratory, State University of Londrina, Brazil

11 Corresponding author: Allexya Soares de Carvalho

12 Address: Avenida Robert Koch, 60.

13 Telephone: (43) 996850154

14 Email: allexya.carvalho@uel.br

15

16 **ABSTRACT**

17 **Aims:** Crohn's disease (CD) shows continuous inflammation in the gastrointestinal
18 tract. The presence of visceral fat, common in CD, points to a possible link between
19 metabolic syndrome (MS) and intestinal inflammation. This can lead to the
20 development of oxidative stress (OS) in patients affected by these conditions. This
21 study aimed to analyze and compare the levels of biochemical, inflammatory and OS
22 and nitrosative biomarkers between two groups of patients with CD with or without
23 MS. **Materials and Methods:** Laboratory tests and OS assays were performed by
24 the Laboratory of Clinical Analysis and the Graduate Laboratory of the University
25 Hospital of Londrina in adequately prepared serum and red blood cells samples from
26 patients with CD with MS (n=24) and CD without MS (n=63). **Results:** The group with
27 CD with MS had higher age, BMI, AC, frequency of hypertension, DM and dyslipidemia
28 than the group without MS. There was greater use of antihypertensive, hypoglycemic
29 and lipid-lowering drugs in the group with MS. Levels of TRI, GLU, insulin and ALT
30 increased in patients with MS. The OS marker, AOPP showed higher levels in the DC
31 group with MS. **Conclusion:** This study provides evidence that there is an influence
32 of MS on the inflammatory and redox state of patients with CD, highlighting the AOPP
33 that showed to be a sensitive marker of OS in this context.

34 **Keywords:** Obesity, Crohn's disease, Antioxidants, Oxidative Stress, Metabolic
35 Syndrome.

1 1. Introduction

2
3 Crohn's disease (CD) is a recurrent inflammatory disease that affects the
4 gastrointestinal tract, incurable by clinical or surgical treatment, and can manifest
5 anywhere from the mouth to the anus. The inflammation is progressive, uni or
6 multifocal, of variable intensity and transmural and can affect all segments of the
7 gastrointestinal tract, the most common being the terminal ileum and the colon,
8 impairing intestinal function and potentially leading to disability [1].

9 Initially, malnutrition was a predominant feature in these individuals, due to
10 malabsorption of nutrients resulting from intestinal damage and surgery. However, in
11 recent decades, there has been a drastic change in the profile of these patients, with
12 a notable increase in the prevalence of obesity. This has been associated with a
13 number of additional complications, including an increased risk of cardiovascular
14 disease, Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM) and CD-specific complications such as
15 early relapses, perianal disease, frequent hospitalizations and post-surgical
16 complications [2].

17 Adipose tissue has emerged as an active endocrine organ with a critical role in
18 metabolic syndrome (MS) and in regulating inflammation. The accumulation of
19 visceral fat, which is marked in obesity and CD, suggests an important connection
20 between MS and intestinal inflammation [3].

21 The MS, in turn, comprises a diversity of cardiovascular risk factors, including
22 atherogenic dyslipidemia, abnormal glucose tolerance, hypertension and visceral
23 obesity, all strongly associated with insulin resistance. The presence of MS and its
24 components increases the risk of complications related to T2DM, promoting an early
25 increase in the risk of developing cardiovascular diseases and atherosclerosis [4].

26 The main pathological feature of CD is inflammation which can affect the entire
27 gastrointestinal tract, presenting periods of crisis and periods of remission during the
28 course of the disease, a process strongly linked to the generation of reactive
29 metabolites such as reactive nitrogen species (RNS) and reactive oxygen species
30 (ROS). The first defense against oxidizing agents in cells is the production of
31 antioxidants; however, when there is chronic oxidative stress (OS), the resources of
32 antioxidant defenses can fail and their ability to produce more antioxidants is impaired
33 [5,6].

1 Advanced oxidation protein products (AOPP) are derivatives of albumin,
2 fibrinogen, and oxidation-modified lipoproteins, formed mainly by the
3 myeloperoxidase/H₂O₂/halide system in an OS environment. AOPP contains
4 dityrosine, carbonyl groups and cross-linking, and is mainly eliminated by the liver and
5 spleen. They are recognized as markers of oxidative damage, OS intensity and
6 inflammation. Although they are formed in small amounts during life, their
7 concentrations increase with age. In pathological conditions such as MS and CD,
8 AOPP concentrations are significantly higher, relating to oxidant-antioxidant
9 imbalance and inflammation. The determination of AOPP levels is a simple and fast
10 method, which can be useful as a marker to collaborate, along with other markers, in
11 the diagnosis and monitoring of disorders [7]

12 In the context of CD, where nutrient absorption can be impaired during the
13 acute phase of the disease, monitoring serum levels of these antioxidants is essential.
14 This highlights the importance of assessing and understanding OS in CD, a condition
15 in which ROS play a relevant role.

16 To date, we are not aware of studies that have evaluated patients with CD with
17 the presence or absence of other risk factors for MS. So, this study is important
18 because it evaluates several metabolic, inflammatory and OS parameters in this
19 population and so far, no work have shown these markers in these conditions.
20 Therefore, the aim of this study was to evaluate OS and nitrosative stress (NS) in
21 patients with CD and to correlate clinical, metabolic, and inflammatory parameters with
22 biomarkers OS/NS markers, analyzing whether there is a difference in these
23 parameters between patients with and without MS.

24

25 2. Methodology

26 2.1 Ethical aspects

27

28 The study was approved by the Ethics Committee for Research Involving
29 Human Beings of the State University of Londrina (UEL) (CAAE.
30 91833018.2.0000.5231), CEP/UEL nº 2.767.257 (Annex A). The individuals were
31 invited to take part in the study voluntarily and signed an informed consent form. This
32 study was conducted in accordance with the guidelines set out in the Declaration of
33 Helsinki.

34

2.2 Study design and sampling

This is a cross-sectional study where 87 individuals with a diagnosis of CD were selected, which were divided into two groups: 1- CD with MS (n=24), 2- CD without MS (n=63) attended by the outpatient Gastroenterology of the Outpatient Specialty Hospital of Londrina, from June 2018 to May 2019.

Individuals of both sexes (men = 37) and (women = 50) aged between 18 and 76 years were included in the study. Information regarding lifestyle and medical history were obtained from clinical evaluation of each patient and electronic medical record through the Medview software. The following factors were considered exclusion criteria in both groups: age below 18 years, presence of autoimmune diseases, cardiovascular diseases, chronic kidney disease, chronic liver disease, neoplasms and acute or chronic infectious diseases, use of antioxidants.

2.3 Diagnosis of Crohn's disease (CD)

Diagnoses of CD were established through a comprehensive clinical approach, which involved the combined assessment of endoscopic, histological and biochemical investigations. This diagnostic strategy was adopted on the basis of the guidelines of the third European consensus, which is based on scientific evidence and provides up-to-date guidelines for the diagnosis and management of CD. The combination of these different investigation methods allows for a holistic approach to the accurate diagnosis of CD and helps differentiate between CD and other conditions with similar symptoms [8].

In the clinical assessment of CD, various symptoms were considered, such as increased frequency and altered consistency of stools, presence of diarrhea with mucus and blood, abdominal pain, tenesmus (feeling of incomplete emptying), fecal urgency, as well as the presence of fever, fatigue and loss of appetite. Factors such as previous use of certain medications, history of intestinal infectious diseases, family history of CD or ulcerative colitis (CRU) and colorectal cancer, as well as the presence of extraintestinal manifestations such as rheumatological, dermatological and ophthalmic involvement, among others, were also considered. Patients underwent video colonoscopy with ileoscopy or videorectal sigmoidoscopy (EC-250HL5 videocolonoscope - EPX 2500 Fujinon system, Tokyo, Japan) to assess the endoscopic activity of IBD, with prior intestinal preparation with 20% mannitol as

1 already carried out according to the protocol of the Gastroenterology outpatient clinic
2 of the University Hospital Specialties Outpatient Clinic (AEHU). Videocolonoscopy
3 allows direct visualization and biopsy of the mucosa of the rectum, colon and terminal
4 ileum [9].

5 The CDAI was used to assess CD activity [10]. The CDEIS was used for the
6 endoscopic evaluation of CD activity [11].

7 In the histopathological analysis, the microscopic diagnosis of CD was based
8 on the finding of focal and discontinuous chronic inflammation, focal irregularity of
9 crypts and granulomas (not related to crypt lesion). The same characteristics in
10 addition to villous architectural irregularity can be used for samples from the terminal
11 ileum [8].

12 As complementary methods for assessing the extent and location of CD in the
13 small intestine, contrast radiographs of small intestine morphology and computed
14 tomography enterography were performed [8].

15

16 2.4 Diagnosis of Metabolic Syndrome

17

18 The MS diagnosis was made using the National Education Program on Adult
19 Cholesterol - Treatment Panel III (NCEP-ATP III) definition, represented by a
20 combination of at least three of the following components: abdominal obesity through
21 abdominal circumference (men > 102cm/women > 88cm); triglycerides \geq 150mg/dL;
22 HDL cholesterol (men < 40mg/dL/women < 50 mg/dL); blood pressure (\geq 130 mmHg
23 or \geq 85 mmHg); fasting glucose (100 mg/dL).

24

25 2.5 Collection of biological material

26

27 After a fasting period of 12 hours, subjects were submitted to the collection of
28 13mL of blood by venous puncture: 6 mL in vacuum tubes (VACUETTE) containing
29 EDTA to perform the parameters total leukocytes, neutrophils, platelets, determination
30 of enzymatic activities of total radical-trapping antioxidant potential (TRAP), SOD,
31 CAT, GPx and PON-1 and 7ml of blood in tubes with vacuum (VACUETTE) without
32 anticoagulant for the performance of biochemical and inflammatory markers (CRE,
33 AST, ALT, CRP, ferritin, serum iron, ALB, ESR, total protein, insulin, GLU, model for
34 assessing insulin resistance homeostasis (HOMA-IR), LDL, HDL, TC, TRI, total
35 leukocytes, platelets and hemoglobin) and OS (AOPP, NOx, SH, TRAP, SOD, CAT,

1 GPx, PON1). For the OS tests the samples were separated and stored at -80 C until
2 the moment of analysis, the other tests were done on the day of collection.

3 4 2.6 Biochemical and inflammatory parameters

5
6 Laboratory analysis of biochemical parameters, including TC, HDL, TRI, GLU,
7 AST, ALT, CRE, total protein, albumin, iron (performed at Siemens Dimension. EXL
8 200 Clinical Chemistry System, using Flexreagent cartridges), LDL (was calculated by
9 the Friedwald equation / $LDL = TC - (HDL + TRI/5)$), insulin was determined by
10 immunological assay of chemiluminescence microparticles (CMIA, ARCHITECT;
11 Abbott Laboratory, Abbott Park, IL), HOMA-IR was also calculated using the formula
12 $(\text{insulin mUI/L} \times \text{glycemia mmol/L}/402)$ to assess participants' IR, according to Haffner
13 et al. (1996) [12]. CRP (using Abbott's Architect' C8000 equipment, with the reagent
14 MULTIGENT CRP Vario), ferritin (analyzed in Abbott's Alinity i Analyzer using Alinity
15 i Ferritin Reagent). In addition, hematological parameters including leukocytes,
16 platelets, ESR (analyzed in Horiba's Yumizen H1500 analyzer). All analyses followed
17 manufacturers' recommendations to ensure accuracy and consistency of results.

18 19 2.7 Oxidative and nitrosative stress parameters

20 2.7.1 Determination of advanced oxidation protein products (AOPP).

21
22 Plasma concentrations of AOPP were determined using the semi-automated
23 colorimetry method described by Hanasand et al. (2012) [13]. In this method, the
24 reagent is prepared with potassium iodide (KI) at 1.16 M in deionized water and acetic
25 acid for analysis. The plasma samples are diluted 1:5 with a PBS solution. A
26 calibration curve is then constructed using standards with known concentrations of
27 6.25, 12.5, 25, 50 and 100 μmol of AOPP. After adding the reagents and samples,
28 they were read on a Perkin Elmer® EnSpire microplate reader at a wavelength of 340
29 nm. AOPP concentrations were expressed in micromoles per liter ($\mu\text{mol/L}$) of
30 chloramine equivalents.

31 32 2.7.2 Determination of nitric oxide metabolites (NOx).

33
34 Quantification of nitric oxide metabolites (NOx) in plasma was carried out by
35 determining the concentration of nitrites. Nitric oxide (NO) is an unstable molecule that
36 rapidly degrades into nitrates and nitrites in serum. To quantify NOx is a method based

1 on the reduction of nitrates to nitrites and could be used to determine this gas. This
2 reaction takes place between the nitrate in the sample and a system of cadmium-
3 copper reagents, followed by a diazotation step and colorimetric detection of the
4 azocompound formed with the Griess reagent. The NO_x concentration was measured
5 on a Perkin Elmer® microplate reader at 540 nm and expressed in μM. The nitrite
6 detection method used was considered reliable and sensitive for assessing NO levels,
7 providing relevant information on NO production in different physiological and
8 pathological contexts. This method was based on previous research described by
9 Navarro-González, García-Benayas and Arenas (1998) and Panis et al. (2011)
10 [14,15].

11

12 2.7.3 Sulfhydryl group (SH)

13

14 The colorimetry method described by Hu, adapted for microplates by Taylan
15 and Resmi (2010) [16], was used to determine the concentration of sulfhydryl groups
16 (SH) in plasma. These groups are associated with proteins, such as albumin, and also
17 occur in non-protein compounds, such as glutathione and free cysteine. The reaction
18 between SH groups and 2,2-dithiobisnitrobenzoic acid (DTNB) results in the formation
19 of 5-thio-2-nitrobenzoic acid (TNB), which has a yellow color detectable by
20 spectrophotometry at 412 nm. The decrease in levels of SH groups can indicate
21 oxidative damage and is generally reduced in patients with diseases such as coronary
22 artery disease and rheumatoid arthritis [17].

23

24 2.7.4 Total plasma antioxidant capacity (TRAP).

25

26 TRAP was assessed using the chemiluminescence (QL) technique, adapted
27 from the method described by Repetto et al. (1996) [18]. This methodology allows the
28 detection of hydro- and liposoluble antioxidants present in plasma. The test was
29 carried out by adding to the reaction medium (1.8 mL of 0.1 M glycine buffer, pH 8.6)
30 100 μL of luminol in a 200 μM aqueous solution, 5 μL of serum diluted 50% in glycine
31 buffer and 100 μL of a 200 mM aqueous solution of 2,2' azo-bis (2-amidinopropane),
32 which reacts with the free radicals generated during the oxidation of lipids and
33 proteins, producing chemiluminescence. The reaction is inhibited by the action of
34 antioxidant enzymes such as superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and
35 vitamin E analogues. The addition of plasma to the reaction medium reduces

1 chemiluminescence, and the time taken for initial chemiluminescence levels to recover
2 is proportional to the TRAP.

3 To quantify TRAP, the system was calibrated using a vitamin E analog called
4 Trolox. The induction time after the addition of known concentrations of Trolox and
5 plasma allows TRAP values to be obtained in Trolox equivalents. The results were
6 expressed in micromoles of Trolox. This experiment was conducted on a Victor® -
7 Perkin Elmer reader, using a non-coincident counting mode for 30 minutes, with a
8 response range between 300 and 620 nM.

9

10 2.7.5 Determination of superoxide dismutase (SOD)

11

12 The activity of the enzyme SOD in erythrocytes was determined using the
13 pyrogallol method described by Marklund and Marklund. This method is based on
14 SOD's ability to inhibit the oxidation of pyrogallol, which is monitored by reading the
15 reaction on a microplate reader at a wavelength of 420 nm, using the Perkin Elmer®
16 EnSpire model. The results of SOD activity were expressed in units per milligram of
17 hemoglobin (U/mgHb). SOD plays a crucial role in protecting cells against OS,
18 converting superoxide into hydrogen peroxide and oxygen [19,20].

19

20 2.7.6 Determination of catalase (CAT)

21

22 The activity of the enzyme CAT was analyzed by measuring the decay in the
23 concentration of hydrogen peroxide (H₂O₂) and the generation of oxygen. This
24 method is based on the technique described by Aebi. The CAT reaction was read on
25 a microplate reader at a wavelength of 240 nm, using the Perkin Elmer® EnSpire
26 model. The CAT activity results were expressed in units per milligram of hemoglobin
27 (U/mgHb). CAT plays an important role in protecting cells against OS by converting
28 hydrogen peroxide into water and oxygen [21,22].

29

30 2.7.7 Determination of glutathione peroxidase (Gpx)

31

32 The activity of the enzyme glutathione peroxidase (GPx) was determined using
33 the method described by Sies. In this method, GPx activity is measured by the
34 decrease in absorbance resulting from the oxidation of Nicotinamide Adenine
35 Dinucleotide Reduced Phosphate (NADPH) during the reduction of oxidized

1 glutathione catalyzed by glutathione reductase. The absorbance was read on a
2 microplate reader at a wavelength of 340 nm, at a temperature of 30°C [23].

3 4 2.7.8 Determination of paraoxonase-1 (PON-1) activity

5
6 The total activity of the enzyme PON-1 was determined using the method
7 described by Richter et al. The reaction was read on a Perkin Elmer® microplate
8 reader, model EnSpire (Waltham, MA, USA), using a wavelength of 270 nm, under
9 different salt concentration conditions. The procedure consisted of taking 16 readings
10 with 15-second intervals between them, over a period of 4 minutes, with the
11 temperature maintained at 25°C. The total activity of PON-1 was expressed in units
12 per mL (U/mL) [24].

13 14 2.8 Statistical analysis

15
16 The statistical analysis of the data was made by the Shapiro-Wilk and Levene
17 tests, to evaluate the distribution of the data and homogeneity, respectively.
18 Contingency table analysis (χ^2 test) was used to assess associations between
19 categorical variables, while variance analysis (ANOVA) was used to assess
20 differences in continuous variables between treatment groups. One-Way Anova test
21 or Mann-Whitney test was performed between the groups with and without MS.
22 Correlation of variances was performed by the Pearson correlation test. The p-value
23 <0.05 was used for statistical significance. Statistical analyses were performed on the
24 IBM Statistical Package for the Social Science (SPSS) Windows version 25.

25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35

1 3. Results

2

3 Table 1 shows the clinical and anthropometric data between CD patients with
4 and without MS. We observed that the group with MS was older ($p=0.001$) than the
5 group without MS, the group with MS had higher body mass index (BMI) values
6 ($p=0.001$), as well as abdominal circumference (AC) ($p=0.001$). In terms of associated
7 comorbidities, the MS group had a higher frequency of hypertension, DM and
8 dyslipidemia than the non-MS group, as expected ($p=0.001$). Regarding the use of
9 medication, there was greater use of antihypertensive, hypoglycemic and lipid-
10 lowering drugs in the MS group ($p=0.001$)

11

12 **Table 1** Analysis of clinical and anthropometric data between CD patients with and
13 without MS

Variables	Patients with MS (n=24)	Patients without MS (n=63)	F/X ²	Df	P
Age (years)	53,25±2,40	41,60±1,96	11,927	1	0,001
BMI (Kg/m ²)	29,56±0,71	24,56±0,47	25,083	1	0,001
AC	101,00±1,85	86,79±1,56	23,701	1	0,001
Ethnicity (C/nC)	17/7	43/20	0,054	1/87	0,817
Sex (F/M)	18/6	32/31	4,160	1/87	0,053
SAH (N/Y)	7/17	52/11	22,68	1/87	0,001
DM (N/Y)	11/13	63/0	40,120	1/87	0,001
Dyslipidemia (N/Y)	11/13	63/0	40,120	1/87	0,001
Spondyloarthropathy (N/Y)	23/1	62/1	0,515	1/87	0,478
Smoker (N/Y)	22/2	53/10	0,831	1/87	0,498
Drinker (N/Y)	20/4	47/16	0,748	1/87	0,570
Use of antihypertensives (N/Y)	7/17	52/11	22,68	1/87	0,001

Use of hypoglycemic agents (N/Y)	10/14	62/1	39,221	1/87	0,001
Use of lipid-lowering agents (N/Y)	13/11	63/0	30,054	1/87	0,001
Use of antidepressants (N/Y)	23/1	55/8	1,364	1/87	0,434
Use of aminosalicylate (N/Y)	19/5	49/14	0,020	1/87	1,000
Use of immunosuppressants (N/Y)	10/14	19/44	1,036	1/87	0,321
Use of MESA_SSZ (N/Y)	2/0	12/1	0,165	1/15	0,867
Use of AZA_MTX (N/Y)	14/0	41/2	0,675	1/57	0,566
Use of corticosteroids (N/Y)	23/1	56/7	1,004	1/87	0,249
Use of ANTI_TNF (N/Y)	9/15	28/35	0,343	1/87	0,368
Use of INFLIXI_ADALI_CERTO (N/Y)	8/7	13/22	1,130	1/50	0,226
Use of ANTI_IL12_IL23 (N/Y)	20/0	39/1	0,508	1/60	0,667

1 All results are shown as mean (EPM). P<0,05. CD: Crohn's Disease; SM: Metabolic
2 Syndrome; BMI: Body Mass Index; AC: Abdominal Circumference; C/nC: Caucasian/
3 non-Caucasian; F/M: female/male; PON1: Paraoxonase-1; SAH: Systemic Arterial
4 Hypertension; T2DM: Type 2 Diabetes Mellitus; MESA_SSZ: Mesalazina; AZA_MTX:
5 azatioprina and metotrexato; ANTI_TNF: Anti factor of tumor necrosis;
6 INFLIXI_ADALI_CERTO: Infliximabe; Anti interleukin 12 and interleukin 23; N: Not; Y:
7 Yes; N: number.

1 Table 2 shows the biochemical and inflammatory markers among patients with
 2 CD with and without MS. It was observed that the levels of TRI, Glucose, Insulin, ALT
 3 ($p = 0.001$) and AST ($p = 0.011$) were increased in the group of patients with CD with
 4 MS when compared to patients without MS. The other parameters showed no
 5 difference between two groups.

6
 7
 8

Table 2 Analysis of biochemical and inflammatory data between CD patients with and without MS.

Variables	Patients with MS (n=24)	Patients without MS (n=63)	F/X ²	df	P
TC (mg/dL)	180,52±10,39	165,50±4,73	2,226	1	0,139
HDL (mg/dL)	45,66±1,83	50,80±1,71	3,265	1	0,074
LDL (mg/dL)	105,23±8,24	97,63±3,99	1,339	1	0,251
TRI* (mg/dL)	174,14±15,52	86,59±6,73	23,869	1	0,001
Glucose* (mg/dL)	117,90±7,72	87,92±0,90	53,621	1	0,001
Insulin* (mcUI/mL)	12,27±1,54	7,76±0,54	11,418	1	0,001
HOMA-IR (insulin mUI/L x glycemia mmol/L/402)	1,64 (0,68-2,74)	1,86 (0,23-6,12)	2,041	1	0,157
AST* (U/L)	28,61±3,80	21,09±1,01	6,811	1	0,011
ALT* (U/L)	41,19±4,98	26,01±1,35	11,664	1	0,001
Creatinine (mg/dL)	0,84±0,05	0,86±0,02	0,822	1	0,367
Total proteins (g/dL)	7,52±0,14	7,35±0,07	1,841	1	0,178
Albumin (g/dL)	3,79±0,07	3,79±0,05	0,244	1	0,622
Iron (mg/L)	77,57±5,67	85,05±5,69	1,286	1	0,260
CRP (mg/dL)	5,59±1,45	4,60±0,83	0,244	1	0,623
ESR (mm/h)	25,68±4,88	16,57±2,20	2,340	1	0,130
Ferritin (mcg/L)	103,37±13,99	108,11±13,21	1,585	1	0,212

9 All results are shown as mean (EPM) or median (minimum value-maximum value).
 10 $P < 0,05$. * Data transformed into NL: Neperian Logarithm; CD: Crohn's Disease; MS:
 11 Metabolic Syndrome; TC: Total cholesterol; HDL: High-density lipoprotein; LDL: Low-
 12 density lipoprotein; TRI: Triglycerides; HOMA-IR: Model for Assessing Insulin
 13 Resistance Homeostasis; AST: Aspartate aminotransferase; ALT: Alanine

1 aminotransferase; CRP: C-reactive protein; ESR: erythrocyte sedimentation rate; N:
2 number.

3

4

5 Table 3 presents the hematological data of patients with CD with and without
6 MS. When the groups were compared, there were no significant differences between
7 them, considering the hematological hemoglobin, leukocytes and platelets.

8

9 **Table 3** Analysis of hematological data between CD patients with and without MS.

Variables	Patients with MS (n=24)	Patients without MS (n=63)	F/X ²	df	P
Hemoglobin (g/dL)	13,25±0,30	13,77±0,25	0,359	1	0,550
Leucocytes counting (mm ³)	6465,00±399,62	5902,08±327,36	0,615	1	0,435
Platelets (mm ³)	269,50±18,59	243,20±7,83	1,730	1	0,192

10 All results are shown as mean (EPM). P<0,05. CD: Crohn's Disease; MS: Metabolic
11 Syndrome; N: number.

12

13 Table 4 shows the OS biomarkers among CD patients with and without MS.
14 Higher levels of the AOPP (p=0,001) were observed in the MS group when compared
15 to the group without MS. The other parameters showed no statistical difference
16 between the groups.

17

18 **Table 4** Analysis of OS biomarkers between CD patients with and without MS.

Variables	Patients with MS (n=24)	Patients without MS (n=63)	F/X ²	Df	P
SOD (activity/gHb/min)*	71,39±12,82	63,19±7,61	0,373	1	0,543
CAT (abs/min/gHb)	30,68±2,38	32,14±1,66	0,254	1	0,616
PON1 total (U/mL)	147,42 (72,94-268,69)	160,01 (75,12-345,13)	0,854	1	0,310
SH (µmol/L)	191,02±13,60	219,60±9,79	2,367	1	0,128
TG (mM/gHb)	6,76±0,29	6,98±0,16	0,483	1	0,489
GSH (mM/gHb)	5,95±0,20	6,15±0,13	0,810	1	0,371
GSSH (mM/gHb)*	0,40±0,89	0,41±0,04	0,001	1	0,981

AOPP ($\mu\text{mol/L/eq. Cloramin T}$) [*]	97,73 \pm 6,89	78,79 \pm 1,87	13,276	1	0,001
NOx ($\mu\text{mol/L}$) [*]	8,99 \pm 1,80	6,73 \pm 0,28	1,427	1	0,236
TRAP ($\mu\text{mol trolox/mg/dL}$)	737,24 \pm 41,27	715,35 \pm 23,02	0,389	1	0,534

1 All results are shown as mean (EPM) or median (minimum value-maximum value).
2 P<0,05. *Data processed in LN transformation. LN: Neperian Logarithm; OS:
3 Oxidative Stress; CD: Crohn's Disease; MS: Metabolic Syndrome; SOD: Superoxide
4 Dismutase; PON1 total: Total Paraoxonase; SH: Sulfhydryl Group; TG: Total
5 Glutathione; GSH: Reduced Glutathione; GSSH: Oxidized Glutathione; AOPP:
6 Advanced Oxidation Protein Products; NOx: Nitric Oxide Metabolites; TRAP: Total
7 plasma antioxidant capacity; N: number.

8

9

10 Table 5 and 6 shows the results of Pearson's correlation analysis between
11 metabolic and biochemical parameters correlated with OS biomarkers in the groups
12 with CD in the presence or absence of MS. AOPP showed a positive correlation with
13 TC (r=0.258), TRI (r=0.550), GLU (r=0.346), AST (r=0.323) and ALT (r=0.278). The
14 levels of NOx showed a positive correlation with TRI (r=0.258), GLU (r=0.388), AST
15 (r=0.415), ALT (r=0.345) and CRE (r=0.415). TRAP showed an inversely correlation
16 with platelets (r=-0.226), while with CRE showed a positive correlation (r=0.348). The
17 sulfhydryl group (SH) showed an inversely correlation with leukocytes (r=-0.247) and
18 ERS (r=-0.228), while with ALB it showed a positive correlation (r=0.313). Glutathione
19 levels showed a positive correlation with CRE (r=0.243). GSH levels showed an
20 inversely correlation with GLU (r=-0.252). CAT showed an inversely correlation with
21 hemoglobin (r=-0.246), TRI (r=-0.240) and ALT (r=-0.332). SOD showed a positive
22 correlation with insulin levels (r=0.221). PON1 total showed a positive correlation with
23 hemoglobin (r=0.282) and leukocytes (r=0.212).

23

24

25

26

27

28

29

30

1 **Table 5** The Pearson correlation coefficient between metabolic and biochemical
 2 parameters with the oxidant biomarkers of OS between the groups with DM with and
 3 without MS.

	AOPP ($\mu\text{mol/L}$)	NOX ($\mu\text{mol/L}$)
Hemoglobin (g/dL)	0,074	0,076
Leucocytes (mm^3)	0,137	0,008
Platelets (mm^3)	0,019	0,083
ESR (mm/h)	0,028	0,153
TC (mg/dL)	0,258*	0,167
HDL (mg/dL)	0,006	-0,001
LDL (mg/dL)	0,164	0,182
TRI (mg/dL)	0,550*	0,256*
Glucose (mg/dL)	0,346*	0,388*
Insulin (mcUI/mL)	0,063	-0,027
AST (U/L)	0,323*	0,415*
ALT (U/L)	0,278*	0,345*
Total proteins (g/dL)	0,139	0,186
Albumin (g/dL)	0,190	0,074
Ferritin (mcg/L)	-0,074	0,053
Iron (mg/L)	0,105	-0,041
CRP (mg/dL)	-0,035	0,112

4 * P <0,05. ESR: erythrocyte sedimentation rate; TC: Total Cholesterol; HDL: High-
 5 density lipoprotein; LDL: Low-density lipoprotein; TRI: Triglycerides; AST: Aspartate
 6 aminotransferase; ALT: Alanine aminotransferase; CRP: C-Reactive Protein; AOPP:
 7 Advanced Protein Oxidation Products; NOx: Nitric Oxide Metabolites; N: number.

8
 9
 10
 11
 12
 13
 14
 15
 16

Table 6 The Pearson correlation coefficient between metabolic and biochemical parameters with antioxidant biomarkers of EO between groups with DM with and without MS.

	TRAP (μM de Trolox)	SH (μmol)	TG (miliMolar/ gHb)	GSH (miliMolar/ gHb)	GSSH (miliMolar/ gHb)	CAT (U/mgHb)	SOD (USOD/gHb/ minuto)	PON1 total (U/mL)
Hemoglobin (g/dL)	0,199	0,157	0,119	0,096	0,075	-0,246*	0,134	0,282*
Leucocytes (mm^3)	0,110	-0,247*	-0,155	-0,168	-0,039	0-,153	-0,094	0,212*
Platelets (mm^3)	-0,226*	-0,009	-0,042	-0,016	-0,051	0,120	-0,097	-0,004
ESR (mm/h)	0,059	-0,228*	-0,205	-0,147	-0,154	0,185	-0,060	-0,086
TC (mg/dL)	0,112	-0,141	-0,031	-0,024	-0,021	-0,139	-0,059	0,154
HDL (mg/dL)	-0,060	-0,012	-0,137	-0,125	-0,066	0,042	0,009	0,052
LDL (mg/dL)	0,132	-0,041	0,032	0,059	-0,023	-0,111	-0,021	0,141
TRI (mg/dL)	0,057	-0,196	-0,137	-0,146	-0,037	-0,240*	-0,044	-0,033
Glicose (mg/dL)	0,006	-0,177	-0,183	-0,252*	0,027	-0,033	-0,125	-0,028
Insulin (mcUI/mL)	-0,055	-0,025	-0,005	-0,014	0,010	-0,105	0,221*	0,192
AST (U/L)	0,188	-0,024	-0,062	-0,090	0,015	-0,142	0,116	0,050
ALT (U/L)	0,158	-0,159	-0,085	-0,103	-0,007	-0,332*	0,096	0,073
Total proteins (g/dL)	0,179	0,006	-0,088	-0,072	-0,053	0,028	0,054	0,029
Albumin (g/dL)	0,163	0,313*	0,140	0,131	0,064	-0,104	0,021	0,129
Ferritin (mcg/L)	0,180	0,000	0,066	0,096	-0,015	-0,062	-0,006	-0,142
Iron (mg/L)	0,208	-0,022	0,065	0,073	0,013	-0,144	0,128	0,130
CRP	0,117	-0,124	-0,001	0,055	-0,072	0,011	0,085	-0,076

(mg/dL)

* P <0,05. ESR: erythrocyte sedimentation rate; TC: Total Cholesterol; HDL: High-density lipoprotein; LDL: Low-density lipoprotein; TRI: Triglycerides; AST: Aspartate aminotransferase; ALT: Alanine aminotransferase; CRP: C-Reactive Protein; TRAP: Total plasma antioxidant capacity; SH: Sulfhydryl Group; TG: Total Glutathione; GSH: Reduced Glutathione; GSSH: Oxidized Glutathione; CAT: Catalase; SOD: Superoxide Dismutase; PON1 total: Paraoxonase1; N: number.

1 4. Discussion

2
3 The main finding of this study was the greater presence of OS in the group with
4 CD and MS evidenced by high levels of AOPP when compared to the group without
5 MS. Previous data from our research group had already associated high levels of
6 AOPP with MS components. In this study, 76 individuals were selected to compare
7 protein oxidation measured by AOPPs with lipid peroxidation and to verify which
8 oxidative marker is more related to patients with MS. They demonstrated that there
9 was a strong correlation between the components of MS and AOPP, when compared
10 with the lipid peroxidation determined by chemiluminescence and the oxidation assay
11 of ferrous orange-xylene (FOX). In addition, this study associated an increase in the
12 number of MS components with greater influence on AOPP levels than on lipid
13 peroxidation markers [25]. This result may be related to the results of our study, in
14 which AOPP showed positive correlation with TC, TRI, GLU, AST and ALT,
15 biochemical markers associated with MS [26].

16 This same group had a higher prevalence of metabolic diseases such as
17 hypertension, T2DM, dyslipidemia and IR than patients with CD without MS. Proving
18 that OS plays a significant role in the pathogenesis of MS and in CD, especially in
19 manifestations such as IR, hypertension and dyslipidemia [4].

20 Elevated serum levels of AOPP in patients with CD were found in a study
21 conducted in Italy by Luceri et al. (2019) [27], involving patients with CD and healthy
22 subjects. When protein/lipid oxidation products and total antioxidant capacity in serum
23 were evaluated, the results showed significantly higher levels of these in patients with
24 CD compared to controls. Specifically, serum AOPP levels in patients with CD showed
25 considerable difference in relation to healthy volunteers. Although in our study we did
26 not compare the group of patients with a healthy group, AOPP was still a sensitive
27 marker when compared to patients with CD and MS with the group of patients without
28 MS.

29 AOPPs are formed by the interaction between hypochlorous acid (HOCl),
30 produced by the enzyme myeloperoxidase (MPO), and albumin, the main protein
31 source. In addition to reflecting protein oxidative damage, AOPPs play an active role
32 as mediators of the inflammatory process, activating cells such as monocytes and
33 neutrophils. Thus, the AOPPs stand out among the other markers usually measured
34 to reflect the EO, since they can play crucial roles in the pathophysiology of various

1 diseases. Its formation and capacity of cellular activation become important indicators
2 of oxidative and inflammatory imbalances in different pathological conditions [28,29].

3 The AOPP technique evaluates protein oxidation by detecting these permanent
4 products generated by protein oxidation. These structural changes modify the physical-
5 chemical and functional properties of proteins, affecting their normal biological
6 functions. The analysis of AOPP levels can be used as a marker for diagnosis and
7 monitoring of OS-related disorders, such as those present in CD and MS [30].

8 The other parameters of OS, both oxidant (NO_x) and antioxidants (SH, TRAP,
9 SOD, CAT, GSH, GSSH and PON) showed no statistical difference between the
10 groups. Thus, it can be considered that given the chronic inflammation generated by
11 CD, these patients are in OS. However, there was no difference between the groups,
12 probably because the MS alone was not able to change the OS parameters.

13 A study by Bregenzer et al. (2006) [31] compared 17 patients with CD (age: 20-
14 50) and 13 healthy individuals (age: 20-47), analyzing their insulin responses through
15 an oral glucose tolerance test. GLU levels between groups did not show significant
16 differences. However, patients with CD showed a significant increase in insulin levels
17 and function of β cells, indicating hypersecretion of insulin. Divergent results were
18 found in our study regarding GLU levels in the MS group. On the other hand, regarding
19 insulin levels, the results were like the study. It can be related to the diagnostic criteria
20 for MS, which is related to IR, thus influencing other associated markers such as GLU
21 and TRI.

22 Hepatic markers also increased in the group with CD and MS, are not part of
23 the diagnosis of MS, but may have been influenced by changes in this condition.
24 Although these liver tests have higher levels in this group, in both groups the values
25 are not clinically elevated. Volp et al. (2008) [32] indicated an association with visceral
26 obesity, MS and its components, suggesting that liver damage is mediated by
27 hyperglycemia, possibly representing the hepatic element of MS. Individuals with this
28 condition may face an increased risk of developing cardiovascular diseases.

29 Our study showed a positive correlation between the biochemical parameters
30 of TRI, GLU with NO_x. Conditions of hyperglycemia and hypertriglyceridemia in MS
31 trigger an increase in OS. Culminating in the activation of the iNOS pathway, which
32 produces more NO [33].

33 An experimental study in rats by Vega et al. (1998) [34] evaluating hepatic
34 perfusion. They observed that there was a decrease in the bioavailability of NO causing

1 an increase in blood pressure due to vasoconstriction in the hepatic portal vein. With
2 this there was a liver injury due to lack of oxygenation, leading to increased ALT and
3 AST. We can make a possible relationship between the result of this study and the
4 result we obtained in our study, where the correlation between NOx with AST and ALT
5 was positive.

6 The nitric oxide synthetase (NOS) enzymatic system plays a crucial role in MS
7 and CD, because it is conditions that favor endothelial dysfunction, impairing vascular
8 tone and favoring arterial hypertension. In ideal physiological conditions, the calcium
9 (Ca^{2+})/calmodulin complex in the endothelium activates the eNOS pathway in the
10 presence of tetrahydrobiopterin (BH_4), which by influence of NADPH together with O_2 ,
11 will convert L-arginine into NO and citrulline allowing relaxation of smooth muscles of
12 blood vessels. However, under pathological conditions, which cause deficiency of L-
13 arginine substrate, Ca^{2+} or cofactors such as BH_4 , complete reduction of O_2 to H_2O
14 does not occur, resulting in excessive generation of $\text{O}_2^{\bullet-}$ via induced NO (iNOS) which
15 can produce up to a thousand times more NO than eNOS. The reaction between NO
16 and $\text{O}_2^{\bullet-}$ forms ONOO^- , culminating in decreased bioavailability of NO. This results in
17 NOS decoupling and subsequent vasoconstriction [33,35].

18 CAT and ALT showed negative correlation. This correlation may be associated
19 with the processes of the operating system and the body's response to conditions that
20 affect liver function, since ALT is an enzyme found mainly in the liver, being released
21 into the blood in case of liver damage. CAT is an antioxidant enzyme that plays a
22 crucial role in protecting liver cells from oxidative damage [36]. Therefore, a
23 corresponding increase in CAT activity can occur as part of the body's antioxidant
24 response to protect the liver from further damage.

25 When we correlated CAT with hemoglobin, the result was also a negative
26 correlation. It is known that the presence and activity of CAT are essential to maintain
27 redox balance in blood cells and minimize oxidative damage caused by Eros, possibly
28 influencing hemoglobin levels. The same result was presented when CAT correlated
29 with TRI and may be associated with the regulation of CAT in TRI levels. Elevated
30 levels of TRI in the blood are linked to increased OS, and the presence of antioxidant
31 enzymes such as CAT is important to neutralize the OS associated with increased TRI
32 levels. Vávrová et al. (2013) [37], when comparing individuals with MS and healthy
33 individuals observed that individuals with MS presented significantly higher values of

1 TRI, as well as other MS markers. On the other hand, there was a decrease in
2 antioxidant defense in relation to CAT levels in patients with MS.

3 According to Kirkman et al. (1987) [36], during prolonged exposure of CAT to
4 H₂O₂, CAT-linked NADPH is oxidized in nicotinamide-adenine-dinucleotide-
5 phosphate (NADP⁺) and CAT activity decreases to about one third of initial
6 activity. Consequently, the cause of decreased CAT activity could be due to
7 erythrocyte injury by H₂O₂.

8 In patients with CD, increased visceral adiposity is not directly related to BMI.
9 Studies indicate that these patients have a specific type of fat, known as crawling fat,
10 that extends from the mesenteric region towards the root of the mesentery, covering
11 more than 50% of the surface of the small and large intestine. Crawling fat is identified
12 in all patients with CD and has been used by surgeons as an indicator of the extent of
13 active disease, correlating with the degree of intestinal inflammation. This observation
14 suggests that mesenteric obesity may be a significant characteristic of the disease [38].

15 Our study showed an association between CD and MS in relation to BMI and
16 AC. It was observed that patients with CD and MS tend to have a higher BMI and
17 abdominal circumference compared to patients with CD without MS. This association
18 may be due to factors such as chronic inflammation, changes in nutrient absorption
19 and eating patterns, among others.

20 Increased BMI and abdominal obesity are associated with an increased
21 cardiovascular risk. A study of 14,924 adults examined in the Third National Health
22 and Nutrition Examination Survey, nationally representative, categorized participants
23 based on BMI and AC according to the criteria of the National Institutes of Health. It
24 was found that the health risk is higher in individuals with high values of AC within the
25 categories of normal weight, overweight and obesity class I, compared to those with
26 normal values of AC. In addition, increased AC was an independent predictor of
27 diseases associated with obesity. Thus, there was a general trend of higher probability
28 of occurrence of hypertension, DM, dyslipidemia and MS among individuals with high
29 values of AC, compared to those with normal values of AC [39]. Data that may be
30 related to our study that presented results that showed a higher relationship between
31 BMI and elevated AC of patients with MS, than in patients with CD without MS.

32 Markers of inflammation in our study included leukocytes, ferritin, CRP and
33 ESR. CRP is an acute phase protein, synthesized by the liver, adipocytes, and arterial
34 tissue, being influenced by cytokines such as IL-6, TNF- α and IL-1. TNF- α plays a

1 central role in the inflammatory response, stimulating the synthesis of other cytokines,
2 including acute phase proteins such as fibrinogen, serum amyloid protein A and CRP
3 [40,41]. ESR is a nonspecific test used in the detection and evaluation of the intensity
4 of inflammation, infectious or neoplastic processes, providing an inference about the
5 response to therapy, despite its limitations. In our study, the levels of inflammatory
6 markers were within the reference values in both groups, which was not expected in
7 patients, considering the inflammatory characteristic of CD and MS [42].

8 The correlation between total PON1 with hemoglobin and leukocytes was
9 positive. However, we did not find a well-established relationship between these
10 parameters. A negative correlation was expected considering that the first is a marker
11 of inflammatory state and the second, a marker of EO and inflammatory and both
12 states influence each other. Thus, it is expected that total PON1, due to its antioxidant
13 properties, plays a role in the regulation of OS, leading to a reduction in inflammatory
14 processes, thus influencing leukocyte levels. [43,44].

15 The negative correlation between SH with leukocytes and ESR may be
16 associated with the antioxidant protection performed by SH present in plasma proteins,
17 consequently reducing the inflammatory stimulus, thus reducing the production of
18 leukocytes and ESR [42,45,46]. The correlation between SH and ALB was positive. It
19 can be considered that because it is a plasma protein rich in free SH, mainly from
20 cysteine residues, this correlation was already expected. SH present in ALB are targets
21 of oxidative changes, especially in OS situations. When exposed to EROs and
22 products resulting from OS, SH can undergo oxidation, resulting in conformational and
23 structural changes [46].

24 TRAP levels were negatively correlated with platelet count. Elevated levels of
25 TRAP can influence platelet function through its antioxidant effects preventing
26 excessive platelet production, consequently contributing to decrease the activation of
27 inflammatory mechanisms, reducing signaling for platelet production [47,48].

28 This study shows a negative correlation between GSH and GLU and could be
29 associated with several metabolic interactions between them. GLU is the main source
30 of energy in the body and, when metabolized, produces NADPH, which is essential to
31 regenerate reduced glutathione (GSH) from its oxidized form (GSSH) through the
32 action of the enzyme glutathione reductase (GR). In conditions of hyperglycemia, as
33 evidenced in T2DM, an increase in the production of free radicals and OS may occur.
34 This increase can lead to a greater use of GSH to neutralize free radicals and protect

1 cells from oxidative damage. Therefore, the relationship between GSH and GLU is
2 closely linked to redox balance and OS in the body, and the availability of glucose is a
3 key factor in the regeneration and effectiveness of glutathione as a cellular antioxidant
4 system [49,50].

5 GSH plays a crucial role in the biotransformation and elimination of xenobiotics,
6 as well as defending cells against EO. Its ability to donate electrons to other
7 compounds makes it a good reducer. To maintain its protective activity, GSH is
8 oxidized to glutathione disulfide (GSSH) and needs to be regenerated by a catalytic
9 cycle. This cycle involves three groups of enzymes: glutathione oxidase (GO), GPx
10 and GR. While GO and GPx oxidize GSH to GSSH, GR regenerates GSH from GSSH
11 in the presence of NADPH. This process is essential to maintain the protective efficacy
12 of glutathione against oxidative species [50].

13 In our study the correlation between SOD and insulin was positive. The positive
14 correlation between SOD and insulin indicates that possibly the body is seeking
15 compensation in the production of SOD to increase its antioxidant capacity, due to the
16 increase in EO caused by IR. In a study with 376 Mexican individuals, 152 with MS,
17 conducted by Baez-Duarte et al. (2016) [51], a statistical association between MS and
18 SOD activity was shown, considering the parameters of MS.

19 Our study have some limitations, firstly we did not have a control group, second,
20 this is a cross-sectional study and we cannot establish cause and effect. However, our
21 study presets several inflammatory and OS parameters that can demonstrate the
22 redox imbalance in the MS group, mainly due to the AOPP levels.

23

24

25

26 5. Conclusion

27

28 Based on the results obtained, we can observe that patients with CD with MS
29 may present changes in their OS markers, especially the AOPPs that were highlighted
30 in our study, sensitive marker when compared to the influence of MS on the
31 inflammatory state and OS in patients with CD. Comorbidities have been shown to be
32 important factors for the worsening of CD in conjunction with MS. In addition, when
33 correlated metabolic and biochemical parameters with OS biomarkers it is possible to

1 observe a link between them showing that inflammation and OS generated in CD can
2 have a greater impact when associated with MS.

3 This study showed the importance in identifying the some biomarkers to
4 evaluated the inflammation ans OS in CD patients opening new perspectives for more
5 effective therapeutic approaches. Finally, more studies are still needed to clarify and
6 evaluate the inflammation and OS in this disease.

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

34

35

36

37

38

39

40

41

42

43

44

45

46

6. References

- [1] J.D. Feuerstein, A. S. Cheifetz. Crohn's disease: epidemiology, diagnosis, and management. In: Mayo Clinic Proceedings, Elsevier (2017), p. 1088-1103.
- [2] I. R. Back, et al., Body composition in patients with Crohn's disease and ulcerative colitis, Arquivos de Gastroenterologia, (2017), v. 54, p. 109-114.
- [3] B. Bertin, P. Desreumaux, L. Dubuquoy, Obesity, visceral fat and Crohn's disease. Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care, (2010), v. 13, n. 5, p. 574-580
- [4] L. Hanna-Maaria, et al., The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men, Jama, (2002), v. 288, n. 21, p. 2709-2716.
- [5] E. Alemany-Cosme, et al., Oxidative stress in the pathogenesis of crohn's disease and the interconnection with immunological response, microbiota, external environmental factors, and epigenetics, Antioxidants (2021), v. 10, n. 1, p. 64.
- [6] J. TORRES, et al., Crohn's disease, The Lancet (2017), v. 389, n. 10080, p. 1741-1755.
- [7] A. Piwowar, Advanced oxidation protein products. Part I. Mechanism of the formation, characteristics and property, Polski merkuriusz lekarski: organ Polskiego Towarzystwa Lekarskiego (2010), v. 28, n. 164, p. 166-169.
- [8] F. Gomollón, et al., 3º Consenso europeu baseado em evidências sobre o diagnóstico e tratamento da doença de Crohn 2016: parte 1: diagnóstico e tratamento médico, Journal of Crohn's and Colitis (2017), v. 11, n. 1, pág. 3-25.
- [9] A. K. Shergill, et al., O papel da endoscopia na doença inflamatória intestinal, Endoscopia gastrointestinal (2015), v. 81, n. 5, pág. 1101-1121. e13.

- 1 [10] W. R. Best, et al., Development of a Crohn's disease activity index: National
2 Cooperative Crohn's Disease Study, *Gastroenterology* (1976), v. 70, n. 3, p. 439-444.
3
- 4 [11] R. A. Fausel, A. Kornbluth, M.C. Dubinsky, A primeira endoscopia na suspeita de
5 doença inflamatória intestinal, *Clínicas de Endoscopia Gastrointestinal* (2016), v. 26,
6 n. 4, pág. 593-610.
7
- 8 [12] S. M. Haffner, et al., A prospective analysis of the HOMA model: the Mexico City
9 Diabetes Study. *Diabetes care* (1996), v. 19, n. 10, p. 1138-1141.
10
- 11 [13] HANASAND, M. et al., Improved detection of advance oxidation protein products
12 in plasma, *Clínica Chemica Acta*, (2012), v. 413, p. 901-906.
13
- 14 [14] J. A. Navarro-González, C. García-Benayas, J. Arenas, Semiautomated
15 Measurement of Nitrate in Biological Fluids, *Clin Chem* (1998), v. 44, p. 679-681.
16
- 17 [15] C. Panis, et al., Trypanosoma cruzi: Effects of the absence of 5-lipoxygenase
18 (5-LO) - derived leukotrienes on levels of cytokines, nitric oxide and iNOS expression
19 in cardiac tissue in the acute phase of infection in mice, *Exp Parasitol* (2011), v. 127,
20 p. 58-65.
21
- 22 [16] E. Taylan, H. Resmi, The Analytical Performance of a Microplate Method for Total
23 Sulfhydryl Measurement in Biological Samples, *Turk. J. Biochem* (2010), 35 (3), 275-
24 278.
25
- 26 [17] M.L. Hu, Measurement of protein thiol groups and glutathione in plasma, In:
27 Abelson JN, Simon MI (eds) *Methods in Enzymology*. California: Academic Press
28 (1994), p. 380-82.
29
- 30 [18] M. Repetto, et al., Oxidative stress in blood of HIV infected patients, *Clin Chim*
31 *Acta.* (1996), p. 107- 117.
32

- 1 [19] S. Marklund, G. Marklund, Involvement of the superoxide anion radical in the
2 autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase,
3 European journal of biochemistry (1974), v.47, n. 3, p. 469-474.
4
- 5 [20] J. M. McCord, I. Fridovich, Superoxide dismutase: an enzymic function for
6 erythrocyte superoxide dismutase (hemocuprein), Journal of Biological chemistry (1969), v. 244, n. 22, p.
7 6049-6055.
8
- 9 [21] H. Aebi, Catalase in vitro: Methods in enzymology (1984), v. 105, p. 121-126.
10
- 11 [22] Y. Kono, Generation of superoxide radical during autoxidation of hydroxylamine
12 and an assay for superoxide dismutase, Archives of biochemistry and biophysics
13 (1978), v. 186, n. 1, p. 189-195.
14
- 15 [23] H. Sies, Glutathione and its role in cellular functions (1999), v. 27, p. 916-921.
16
- 17 [24] R. J. Richter, et al., Determination of paraoxonase 1 status without the use of
18 toxic organophosphate substrates, Circulation: Cardiovascular Genetics (2008), v. 1,
19 n. 2, p. 147-152.
20
- 21 [25] D. Venturini, A. N. C. Simão, I. Dichi, Advanced oxidation protein products are
22 more related to metabolic syndrome components than biomarkers of lipid
23 peroxidation, Nutrition research (2015), v. 35, n. 9, p. 759-765.
24
- 25 [26] A. Verdugo-Meza, et al., Connecting the dots between inflammatory bowel
26 disease and metabolic syndrome: A focus on gut-derived metabolites, Nutrients
27 (2020), v. 12, n. 5, p. 1434.
28
- 29 [27] C. LUCERI, et al. Analysis of oxidative stress-related markers in Crohn's disease
30 patients at surgery and correlations with clinical findings, Antioxidants (2019), v. 8, n.
31 9, p. 378.
32
- 33 [28] V. Witko-Sarsat, et al., Advanced oxidation protein products as a novel marker of
34 oxidative stress in uremia, Kidney international (1996), v. 49, n. 5, p. 1304-1313.

- 1
- 2 [29] V. Witko-Sarsat, et al., AOPP-induced activation of human neutrophil and
3 monocyte oxidative metabolism: a potential target for N-acetylcysteine treatment in
4 dialysis patients, *Kidney international* (2003), v. 64, n. 1, p. 82-91.
- 5
- 6 [30] B. Liu, et al., Detection of advanced oxidation protein products in patients with
7 chronic kidney disease by a novel monoclonal antibody, *Free radical research* (2011),
8 v. 45, n. 6, p. 662-671.
- 9
- 10 [31] N. Bregenzer, et al., Increased insulin resistance and β cell activity in patients
11 with Crohn's disease, *Inflammatory bowel diseases* (2006), v. 12, n. 1, p. 53-56.
- 12
- 13 [32] A. C. Volp, et al., Inflammation biomarkers capacity in predicting the metabolic
14 syndrome, *Arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia* (2008), v. 52, n. 3,
15 p. 537-549.
- 16
- 17 [33] M. G. Davies, G. J. Fulton, P. O. Hagen, Clinical biology of nitric oxide, *British*
18 *Journal of Surgery* (1995), v. 82, n. 12, p. 1598-1610.
- 19
- 20 [34] V. L. Vega, et al., Inhibition of nitric oxide synthesis aggravates hepatic oxidative
21 stress and enhances superoxide dismutase inactivation in rats subjected to tourniquet
22 Shock, *Shock* (1998), v. 9, n. 5, p. 320-328.
- 23
- 24 [35] P. Pacher, J. S. Beckman, L. Liaudet, Nitric oxide and peroxynitrite in health and
25 disease, *Physiological reviews* (2007), v. 87, n. 1, p. 315-424.
- 26
- 27 [36] H. N. Kirkman, S. Galiano, G. F. Gaetani, The function of catalase-bound
28 NADPH, *Journal of Biological Chemistry* (1987), v. 262, n. 2, p. 660-666.
- 29
- 30 [37] L. Vávrová, et al., Altered activities of antioxidant enzymes in patients with
31 metabolic syndrome, *Obesity facts* (2013), v. 6, n. 1, p. 39-47.
- 32

- 1 [38] P. Gonçalves, F. Magro, F. Martel, Metabolic inflammation in inflammatory bowel
2 disease: crosstalk between adipose tissue and bowel, *Inflammatory bowel diseases*
3 (2015), v. 21, n. 2, p. 453-467.
4
- 5 [39] I. Janssen, P. T. Katzmarzyk, R. Ross, Body mass index, waist circumference,
6 and health risk: evidence in support of current National Institutes of Health
7 guidelines, *Archives of internal medicine* (2002), v. 162, n. 18, p. 2074-2079.
8
- 9 [40] F. F. Corrêa, V. L. Sdepanian, Body iron status indicators and inflammation
10 indicators during inflammatory bowel disease therapy in children and
11 adolescents, *Archives of Gastroenterology de* (2021), v. 58, p. 48-54.
12
- 13 [41] M. Puzianowska-Kuźnicka, et al., Interleukin-6 and C-reactive protein, successful
14 aging, and mortality: the PolSenior study, *Immunity & Ageing* (2016), v. 13, p. 1-12.
15
- 16 [42] J. J. Dubost, et al., De la vitesse de sedimentation au profil inflammatoire, *La*
17 *Revue de médecine interne* (1994), v. 15, n. 11, p. 727-733.
18
- 19 [43] C. Moya, S. Máñez, Paraoxonases: metabolic role and pharmacological
20 projection, *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology* (2018), v. 391, p. 349-
21 359.
22
- 23 [44] OH. Il Hwan et al., Association of serum ferritin and kidney function with age-
24 related macular degeneration in the general population, *PLoS One* (2016), v. 11, n. 4,
25 p. e0153624.
26
- 27 [45] H. R. Griffiths, ROS as signalling molecules in T cells—evidence for abnormal
28 redox signalling in the autoimmune disease, rheumatoid arthritis, *Redox Report*
29 (2005), v. 10, n. 6, p. 273-280.
30
- 31 [46] S. Biswas, A. S. Chida, I. Rahman, Irfan, Redox modifications of protein–thiols:
32 emerging roles in cell signaling, *Biochemical pharmacology* (2006), v. 71, n. 5, p. 551-
33 564.
34

1 [47] P. Godeny, et al., Effect of n-3 fatty acids in glycemic and lipid profiles, oxidative
2 stress and total antioxidant capacity in patients with the metabolic syndrome, *Arquivos*
3 *Brazilian of Endocrinology Metabolism* (2010), v. 54, p. 463-469.

4
5 [48] F. Violi, et al., Atherothrombosis and oxidative stress: mechanisms and
6 management in elderly, *Antioxidants & redox signaling*, (2017), v. 27, n. 14, p. 1083-
7 1124.

8
9 [49] M. Brownlee, Michael, The pathobiology of diabetic complications: a unifying
10 mechanism, *diabetes* (2005), v. 54, n. 6, p. 1615-1625.

11
12 [50] A. Meister, M. E. Anderson, Glutathione, *Annual review of biochemistry* (1983),
13 v. 52, n. 1, p. 711-760.

14
15 [51] B. G. Baez-Duarte, et al., Association of the metabolic syndrome with antioxidant
16 defense and outstanding superoxide dismutase activity in Mexican
17 subjects, *Metabolic syndrome and related disorders* (2016), v. 14, n. 3, p. 154-160.

18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34

1 7 CONCLUSÃO

2

3

4 A partir dos resultados obtidos, pode-se concluir que existem
5 diferenças entre os parâmetros clínicos quando comparado os grupos com DC na
6 presença de SM e ausência de SM. O grupo com DC e SM se mostrou mais velho,
7 com maior frequência de hipertensão arterial, DM, dislipidemia, em relação ao grupo
8 sem SM. O uso de anti-hipertensivo, uso de hipoglicemiante e uso de hipolipemiante

9

10

11 Os biomarcadores bioquímicos se apresentaram alterados entre os
12 grupos, com aumento nos parâmetros de TRI, glicose, insulina, AST e ALT, nos
13 pacientes com DC com presença de SM.

14

15 Em relação aos parâmetros antropométricos, o grupo com DC e SM
16 também apresentou maior frequência de IMC e CA aumentados, em relação ao grupo
17 sem SM.

18

19 Em relação aos parâmetros de EO, foi verificada diferença
20 significativa nos níveis de AOPP. AOPP foi correlacionada com CT, TRI, glicose, AST
21 e ALT, apresentando uma correlação positiva entre esses parâmetros. Quando
22 correlacionado Nox com TRI, glicose, AST e ALT a correlação foi positiva entre eles.
23 Foi feita a correlação entre os parâmetros antioxidantes de EO, quando
24 correlacionado TRAP com plaquetas; SH com leucócitos, VHS; GSH com glicose;
25 CAT com hemoglobina, TRI e ALT a correlação foi negativa. Já, quando
26 correlacionado SH com ALB; SOD com insulina; PON1 total com hemoglobina e
27 leucócitos a correlação foi positiva.

28

29 Concluiu-se que a análise detalhada do desequilíbrio redox, por meio
30 de testes que avaliam as EROs e ERNs e as defesas antioxidantes podem fornecer
31 informações importantes sobre a atividade da doença, fatores influenciadores e na
32 identificação de possíveis ligações entre essas duas condições. Podendo assim
33 colaborar na melhor compreensão da fisiopatologia da DC na presença de SM, e
34 também no desenvolvimento de abordagens terapêuticas mais eficazes.

31

32

33

34

1 8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

2
3 Com base nos resultados obtidos, podemos observar que pacientes
4 com DC com EM podem apresentar alterações em seus marcadores de EO,
5 especialmente nas AOPPs que foram destacadas em nosso estudo, quando
6 comparadas à influência da EM no estado inflamatório e da EO em pacientes com DC.
7 As comorbidades têm se mostrado importantes fatores para o agravamento da DC em
8 conjunto com a SM. Além disso, quando correlacionados parâmetros metabólicos e
9 bioquímicos com biomarcadores do EO é possível observar uma ligação entre eles
10 mostrando que a inflamação e o EO gerado na DC podem ter um impacto maior
11 quando associado à SM.

12 Concluiu-se que existe uma possível influência da SM no estado
13 inflamatório e redox de pacientes com DC. No entanto, ainda são necessários mais
14 estudos para esclarecer e avaliar novos marcadores inflamatórios e de EO.

15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35

REFERÊNCIAS

- 1
2
3 AEBI, H. **Catalase in vitro**: Methods in enzymology, v. 105, p. 121-126, 1984.
4
5 ALEMANY-COSME, E. et al. Oxidative stress in the pathogenesis of crohn's disease
6 and the interconnection with immunological response, microbiota, external
7 environmental factors, and epigenetics. **Antioxidants**, v. 10, n. 1, p. 64, 2021.
8
9 ANANTHAKRISHNAN, Ashwin N. Epidemiology and risk factors for IBD. **Nature**
10 **reviews Gastroenterology & hepatology**, v. 12, n. 4, p. 205-217, 2015.
11
12 ANIWAN, Satimai; PARK, Sang Hyoung; LOFTUS, Edward V. Epidemiologia, história
13 natural e estratificação de risco da doença de Crohn. **Clínicas de Gastroenterologia** ,
14 v. 46, n. 3, pág. 463-480, 2017.
15
16 ANTONI, Lena et al. Barreira intestinal na doença inflamatória intestinal. **World**
17 **Journal of Gastroenterology: WJG**, v. 20, n. 5, pág. 1165, 2014.
18
19 HANNA-MAARIA, Lakka et al. The metabolic syndrome and total and cardiovascular
20 disease mortality in middle-aged men. **Jama**, v. 288, n. 21, p. 2709-2716, 2002.
21
22 BACK, Ivi Ribeiro et al. Body composition in patients with Crohn's disease and
23 ulcerative colitis. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 54, p. 109-114, 2017.
24
25 BAHIA, Luciana et al. O endotélio na síndrome metabólica. **Arquivos Brasileiros de**
26 **Endocrinologia & Metabologia**, v. 50, p. 291-303, 2006.
27
28 BARBOSA, Kiriaque Barra Ferreira et al. Estresse oxidativo: conceito, implicações e
29 fatores modulatórios. **Revista de nutrição**, v. 23, p. 629-643, 2010.
30
31 1. BASÍLIO, Fernanda Silva; DOS SANTOS, Júlia Maiara; BRANCO, Cátia
32 Santos. O papel do estresse oxidativo na Doença de Crohn: Uma revisão
33 narrativa. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 4, p. e52910414445-
34 e52910414445, 2021.
35
36 BAUMGART, D. C.; SANDBORN, W. J. Crohn's disease. **The Lancet**, v. 380, n. 9853,
37 p. 1590-1605, 2012.
38
39 BERNSTEIN, Charles N. et al. World Gastroenterology Organization Practice
40 Guidelines for the diagnosis and management of IBD in 2010. **Inflammatory bowel**
41 **diseases**, v. 16, n. 1, p. 112-124, 2010.
42
43 BERTIN, Benjamim; DESREUMAUX, Pierre; DUBUQUOY, Laurent. Obesidade,
44 gordura visceral e doença de Crohn. **Opinião Atual em Nutrição Clínica e Cuidados**
45 **Metabólicos**, v. 5, pág. 574-580, 2010.
46
47 BEST, William R. et al. Development of a Crohn's disease activity index: National
48 Cooperative Crohn's Disease Study. **Gastroenterology**, v. 70, n. 3, p. 439-444, 1976.
49

- 1 BRUINING, D.H. et al. Consensus Recommendations for Evaluation, Interpretation,
2 and Utilization of Computed Tomography and Magnetic Resonance Enterography in
3 Patients With Small Bowel Crohn's Disease. **Radiology**. 2018 Mar;286(3):776-799.
4 doi: 10.1148/radiol.2017171437. PMID: 29489445.
5
- 6 CASTEELE, Niels Vande et al. Concentrações mínimas de dosagem de guia de
7 infliximabe para pacientes com doença inflamatória intestinal. **Gastroenterology**, v.
8 148, n. 7, pág. 1320-1329. e3, 2015.
9
- 10 COLOMBEL, Jean-Frédéric et al. Adalimumabe para manutenção da resposta clínica
11 e remissão em pacientes com doença de Crohn: o estudo
12 CHARM. **Gastroenterologia**, v. 132, n. 1, pág. 52-65, 2007.
13
- 14 I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica (1-DBSM).
15 **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 84, p. 3-28, abr. 2005.
16
- 17 ELIAKIM, R.; FIREMAN, Z.; GRALNEK, I.M.; YASSIN, K.; WATERMAN, M.;
18 KOPELMAN, Y. et al. Evaluation of the PillCam Colon capsule in the detection of
19 colonic pathology: results of the first multicenter, prospective, comparative study.
20 **Endoscopy**. 2006 Dec;38(12):963-70. doi: 10.1055/s-2006-944813. PMID: 17163368.
21
- 22 FASANO, Alessio. Zonulina e sua regulação da função da barreira intestinal: a porta
23 biológica para a inflamação, autoimunidade e câncer. **Revisões fisiológicas**, 2011.
24
- 25 FAURE, P.; LAFOND, J.-L. Measurement of plasma sulfhydryl and carbonyl groups as
26 a possible indicator of protein oxidation. In: **Analysis of free radicals in biological**
27 **systems**. Basel: Birkhäuser Basel, 1995. p. 237-248.
28
- 29 FAUSEL, Rebeca A.; KORNBLUTH, Asher; DUBINSKY, Marla C. A primeira
30 endoscopia na suspeita de doença inflamatória intestinal. **Clínicas de Endoscopia**
31 **Gastrointestinal**, v. 26, n. 4, pág. 593-610, 2016.
32
- 33 FEAGAN, Brian G. et al. Vedolizumabe como terapia de indução e manutenção para
34 colite ulcerativa. **New England Journal of Medicine**, v. 369, n. 8, pág. 699-710, 2013.
35
- 36 FEUERSTEIN, J. D.; CHEIFETZ, A. S. Crohn's disease: epidemiology, diagnosis, and
37 management. In: Mayo Clinic Proceedings. **Elsevier**, 2017. p. 1088-1103.
38
- 39 FREEMAN, H. J. Natural history and long-term clinical course of Crohn's disease.
40 **World journal of gastroenterology: WJG**, v. 20, n. 1, p. 31, 2014.
41
- 42 GIULIA, R. et al. Crohn's disease (Primer). **Nature Reviews: Disease Primers**, v. 6,
43 n. 1, 2020.
44
- 45 Gasparini R.G.; Sasaki L.Y.; Saad-Hossne R. Epidemiologia das doenças
46 inflamatórias intestinais no Estado de São Paulo, Brasil. **Gastroenterologia Clínica e**
47 **Experimental**, 2018. 11:423-429 <https://doi.org/10.2147/CEG.S176583>
48

- 1 GOMES, Cristina Guimarães; SANTOS, Filomena Maria Pereira dos; FERREIRA, V.
2 L. Vivências de pessoas ostomizadas com doença de Crohn. **Rev Ref**, v. 12, p. 19-
3 34, 2010.
4
- 5 GOMOLLÓN, Fernando et al. 3º Consenso europeu baseado em evidências sobre o
6 diagnóstico e tratamento da doença de Crohn 2016: parte 1: diagnóstico e tratamento
7 médico. **Journal of Crohn's and Colitis**, v. 11, n. 1, pág. 3-25, 2017.
8
- 9 HAFFNER, Steven M. et al. A prospective analysis of the HOMA model: the Mexico
10 City Diabetes Study. **Diabetes care**, v. 19, n. 10, p. 1138-1141, 1996.
11
- 12 HANASAND, M. et al. Improved detection of advanced oxidation protein products in
13 plasma. **Clínica Chemica Acta**, v. 413, p. 901-906, 2012.
14
- 15 HENCKAERTS, Liesbet; VERMEIRE, Séverine. NOD2/CARD15 disease associations
16 other than Crohn's disease. **Inflammatory bowel diseases**, v. 13, n. 2, p. 235-241,
17 2007.
18
- 19 HOSSNE, Rogério Saad; COY, Claudio Sady Rodrigues. **Atualização em doenças**
20 **inflamatórias intestinais**: conectando a ciência à prática diária. Grupo de estudos da
21 doença inflamatória intestinal do Brasil. Fortaleza, CE, 2019.
22
- 23 HU, ML. Measurement of protein thiol groups and glutathione in plasma. In: Abelson
24 JN, Simon MI (eds) Methods in Enzymology. California: **Academic Press**. p. 380-82,
25 1994.
26
- 27 IMBRIZI, Marcello et al. Second Brazilian Consensus on the Management of Crohn's
28 disease in adults: a consensus of the Brazilian Organization for Crohn's Disease and
29 Colitis (GEDIIB). **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 59, p. 20-50, 2023.
30
- 31 IQBAL, M. et al. Phytochemicals as a potential source for TNF- α
32 inhibitors. **Phytochemistry Reviews**, v. 12, n. 1, p. 65-93, 2013.
33
- 34 KONO, Yasuhisa. Generation of superoxide radical during autoxidation of
35 hydroxylamine and an assay for superoxide dismutase. **Archives of biochemistry**
36 **and biophysics**, v. 186, n. 1, p. 189-195, 1978.
37
- 38 LEVINE, Arie e cols. A ESPGHAN revisou os critérios de porto para o diagnóstico de
39 doença inflamatória intestinal em crianças e adolescentes. **Revista de**
40 **gastroenterologia e nutrição pediátrica**, v. 58, n. 6, pág. 795-806, 2014.
41
- 42 LIU, Beiyi et al. Detection of advanced oxidation protein products in patients with
43 chronic kidney disease by a novel monoclonal antibody. **Free radical research**, v. 45,
44 n. 6, p. 662-671, 2011.
45
- 46 LONE, Jameel Barkat et al. Gut microbiome: Microflora association with obesity and
47 obesity-related comorbidities. **Microbial pathogenesis**, v. 124, p. 266-271, 2018.
48

- 1 MACHIELS, Kathleen et al. Uma diminuição das espécies produtoras de butirato
2 Roseburia hominis e Faecalibacterium prausnitzii define disbiose em pacientes com
3 colite ulcerativa. **Gut**, v. 63, n. 8, pág. 1275-1283, 2014.
4
- 5 MADDUR, Mohan S. et al. Células Th17: biologia, patogênese de doenças
6 autoimunes e inflamatórias e estratégias terapêuticas. **The American Journal of**
7 **Pathology**, v. 181, n. 1, pág. 8-18, 2012.
8
- 9 MAGALHÃES, Filipe CB et al. Doença de Crohn: revisão e padronização da
10 nomenclatura. **Radiologia Brasileira**, v. 56, p. 95-101, 2023.
11
- 12 MARKLUND, S.; MARKLUND, G. Involvement of the superoxide anion radical in the
13 autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. **European**
14 **journal of biochemistry**, v.47, n. 3, p. 469-474, 1974.
15
- 16 MARTEAU, Philippe. Avaliação da extensão da doença com o índice endoscópico de
17 gravidade da doença de Crohn. **Gut**, v. 62, n. 12, pág. 1819-1820, 2013.
18
- 19 MARY JY, et al. Development and validation of an endoscopic index of the severity for
20 Crohn's disease: a prospective multicentre study. Groupe d'Etudes Thérapeutiques
21 des Affections Inflammatoires Digestives. **Gut**. 1989;30(7):983-9. PMID: 2753838.
22
- 23 MCCORD, Joe M.; FRIDOVICH, Irwin. Superoxide dismutase: an enzymic function for
24 erythrocyte superoxide dismutase (hemocuprein). **Journal of Biological chemistry**, v. 244, n. 22, p.
25 6049-6055, 1969.
26
- 27 MCGOVERN, D. P. B. et al. NOD2 (CARD15), the first susceptibility gene for Crohn's
28 disease. **Gut**, v. 49, n. 6, p. 752-754, 2001.
29
- 30 MEIJNIKMAN, Abraham S. et al. Evaluating causality of gut microbiota in obesity and
31 diabetes in humans. **Endocrine reviews**, v. 39, n. 2, p. 133-153, 2018.
32
- 33 M'KOMA, Amosy E. Inflammatory bowel disease: an expanding global health
34 problem. **Clinical Medicine Insights: Gastroenterology**, v. 6, p. CGast. S12731,
35 2013.
36
- 37 MOLODECKY, Natalie A. et al. Aumento da incidência e prevalência das doenças
38 inflamatórias intestinais com o tempo, com base em revisão
39 sistemática. **Gastroenterologia**, v. 142, n. 1, pág. 46-54. e 42, 2012.
40
- 41 NAVARRO-GONZÁLVEZ, J. A.; GARCÍA-BENAYAS, C.; ARENAS, J. Semiautomated
42 Measurement of Nitrate in Biological Fluids. **Clin Chem.**, v. 44, p. 679-681, 1998.
43
- 44 NEURATH, Markus F. Citocinas na doença inflamatória intestinal. **Nature Reviews**
45 **Immunology**, v. 14, n. 5, pág. 329-342, 2014.
46
- 47 PANIS, C. et al. Trypanosoma cruzi: Effects of the absence of 5-lipoxygenase (5-LO)
48 - derived leukotrienes on levels of cytokines, nitric oxide and iNOS expression in
49 cardiac tissue in the acute phase of infection in mice. **Exp Parasitol**, v. 127, p. 58-65,
50 2011.

- 1
2 PAPAY, Pavol et al. Otimizando o monitoramento no manejo da doença de Crohn: a
3 perspectiva de um médico. **Journal of Crohn's and Colitis**, v. 7, n. 8, pág. 653-669,
4 2013.
- 5
6 PASTORELLI, Luca et al. Papel central da barreira epitelial intestinal na patogênese
7 da inflamação intestinal crônica: lições aprendidas com modelos animais e genética
8 humana. **Fronteiras em imunologia**, v. 4, p. 280, 2013.
- 9
10 PENALVA, Daniele Q. Fucciolo. Síndrome metabólica: diagnóstico e tratamento.
11 **Revista de Medicina**, v. 87, n. 4, p. 245-250, 2008.
- 12
13 PETAGNA, L. et al. Pathophysiology of Crohn's disease inflammation and
14 recurrence. **Biology direct**, v. 15, n. 1, p. 1-10, 2020.
- 15
16 PITOCOCO, Dario et al. Oxidative stress, nitric oxide, and diabetes. **The review of**
17 **diabetic studies: RDS**, v. 7, n. 1, p. 15, 2010.
- 18
19 PIWOWAR, A. Advanced oxidation protein products. Part I. Mechanism of the
20 formation, characteristics and property. **Polski merkuriusz lekarski: organ**
21 **Polskiego Towarzystwa Lekarskiego**, v. 28, n. 164, p. 166-169, 2010.
- 22
23 PONDER, Alexis; LONG, Millie D. A clinical review of recent findings in the
24 epidemiology of inflammatory bowel disease. **Clinical epidemiology**, p. 237-247,
25 2013.
- 26
27 QUARESMA, A. B.; KAPLAN, G. G.; KOTZE, P. G., 2019. The globalization of
28 inflammatory bowel disease: the incidence and prevalence of inflammatory bowel
29 disease in Brazil. **Current opinion in gastroenterology**, 35(4), 259–264.
30 <https://doi.org/10.1097/MOG.0000000000000534>.
- 31
32 RENUZZA, Stellamaris Soraya Szulc et al. Incidência, prevalência e características
33 epidemiológicas das doenças inflamatórias intestinais no estado do Paraná no sul do
34 Brasil. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 59, p. 327-333, 2022.
- 35
36 REPETTO, M. et al. Oxidative stress in blood of HIV infected patients. **Clin Chim**
37 **Acta.**, p. 107- 117, 1996.
- 38
39 REVOREDO, Camila Maria Simplicio et al. Doença de Crohn e probióticos: uma
40 revisão. **Revista da Associação Brasileira de Nutrição-RASBRAN**, v. 8, n. 2, p. 67-
41 73, 2017.
- 42
43 REZAIE, Ali; PARKER, Robyn D.; ABDOLLAHI, Mohammad. Estresse oxidativo e
44 patogênese da doença inflamatória intestinal: um epifenômeno ou a causa? **Doenças**
45 **digestivas e ciências**, v. 52, p. 2015-2021, 2007.
- 46
47 RICHTER, R. J. et al. Determination of paraoxonase 1 status without the use of toxic
48 organophosphate substrates. **Circulation: Cardiovascular Genetics**, v. 1, n. 2, p.
49 147-152, 2008.
- 50

- 1 RODA, Giulia et al. Crohn's disease (Primer). **Nature Reviews: Disease Primers**, v.
2 6, n. 1, 2020.
- 3
- 4 ROVER JÚNIOR, Laércio et al. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico
5 da glutatona associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo.
6 **Química Nova**, v. 24, p. 112-119, 2001.
- 7
- 8 ROSETH, A. G.; SCHMIDT, P. N.; FAGERHOL, M.K. Correlation between faecal
9 excretion of indium-111-labelled granulocytes and calprotectin, a granulocyte marker
10 protein, in patients with inflammatory bowel disease. **Scand J Gastroenterol**. 1999
11 Nov;34(11):50-4. doi: 10.1080/003655299750025631. PMID: 10563641.
- 12
- 13 SANDS, Bruce E. et al. Vedolizumabe versus adalimumabe para colite ulcerativa
14 moderada a grave. **New England Journal of Medicine**, v. 381, n. 13, pág. 1215-
15 1226, 2019.
- 16
- 17 SANTOS, J. C. et al. Impact of biological therapy on body composition of patients with
18 Chron's disease. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 63, p. 407-413, 2017.
- 19
- 20 SHERGILL, Amandeep K. et al. O papel da endoscopia na doença inflamatória
21 intestinal. **Endoscopia gastrointestinal** , v. 81, n. 5, pág. 1101-1121. e13, 2015.
- 22
- 23 SHINOZAKI, Kazuya et al. Oral administration of tetrahydrobiopterin prevents
24 endothelial dysfunction and vascular oxidative stress in the aortas of insulin-resistant
25 rats. **Circulation research**, v. 87, n. 7, p. 566-573, 2000.
- 26
- 27 SIES, H. Glutathione and its role in cellular functions. v. 27, p. 916-921, 1999.
- 28
- 29 SOSTEGNI, R. et al., 2003, **Crohn's disease**: monitoring disease activity. *Alimentary*
30 *Pharmacology & Therapeutics*, 17: 11-17. [https://doi.org/10.1046/j.1365-](https://doi.org/10.1046/j.1365-2036.17.s2.17.x)
31 [2036.17.s2.17.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2036.17.s2.17.x)
- 32
- 33 STANGE, Eduard F.; SCHROEDER, Bjoern O. Microbiota and mucosal defense in
34 IBD: an update. **Expert review of gastroenterology & hepatology**, v. 13, n. 10, p.
35 963-976, 2019.
- 36
- 37 TAYLAN, E.; RESMI, H. The Analytical Performance of a Microplate Method for Total
38 Sulfhydryl Measurement in Biological Samples. **Turk. J. Biochem**. 35 (3), 275-278,
39 2010.
- 40
- 41 THOMAS, G. Neil et al. The US national cholesterol education programme adult
42 treatment panel III (NCEP ATP III) prevalence of the metabolic syndrome in a Chinese
43 population. **Diabetes research and clinical practice**, v. 67, n. 3, p. 251-257, 2005.
- 44
- 45 TORRES, J. et al. Crohn's disease. **The Lancet**, v. 389, n. 10080, p. 1741-1755, 2017.
- 46
- 47 VELLOSA, José Carlos Rebuglio et al. Alterações metabólicas e inflamatórias em
48 condições de estresse oxidativo. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e**
49 **Aplicada**, v. 34, n. 3, 2013.
- 50

- 1 VERMEIRE, Séverine et al. Remissão clínica em pacientes com doença de Crohn
2 moderada a grave tratados com filgotinibe (o estudo FITZROY): resultados de um
3 estudo de fase 2, duplo-cego, randomizado, controlado por placebo. **The Lancet**, v.
4 389, n. 10066, pág. 266-275, 2017.
5
- 6 VICTORIA, Carlos Roberto; SASSAK, Ligia Yukie; NUNES, Hélio Rubens de
7 Carvalho. Incidência e prevalência das doenças inflamatórias intestinais na região
8 centro-oeste do Estado de São Paulo. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 46, p. 20-
9 25, 2009.
10
- 11 WITKO-SARSAT, V., et al. Advanced oxidation protein products as a novel marker of
12 oxidative stress in uremia. **Kidney international**, v. 49, n. 5, p. 1304-1313, 1996.
13
- 14 ZHU, Hong; LI, Y. Robert. Estresse oxidativo e mecanismos de sinalização redox da
15 doença inflamatória intestinal: evidências experimentais e clínicas
16 atualizadas. **Biologia Experimental e Medicina**, v. 237, n. 5, pág. 474-480, 2012.
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45

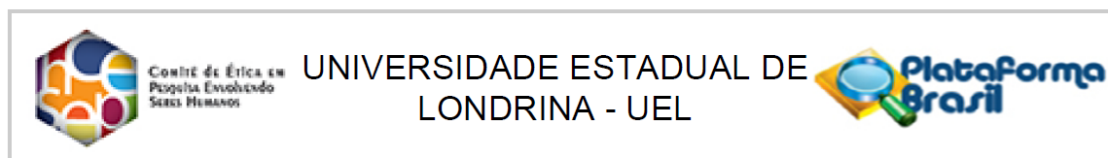
- 1
- 2
- 3
- 4
- 5
- 6
- 7
- 8
- 9
- 10
- 11
- 12
- 13
- 14
- 15
- 16
- 17
- 18
- 19
- 20
- 21
- 22
- 23
- 24
- 25
- 26
- 27
- 28
- 29
- 30
- 31
- 32
- 33
- 34
- 35
- 36
- 37
- 38
- 39
- 40
- 41
- 42
- 43

ANEXOS

1
2
3

ANEXO A

Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação de polimorfismos genéticos, da resposta imunológica e dos biomarcadores de estresse oxidativo em pacientes com doença inflamatória intestinal: associação com a atividade da doença

Pesquisador: Andréa Name Colado Simão

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 91833018.2.0000.5231

Instituição Proponente: CCS - Departamento de Patologia, Análises Clínicas e Toxicologias

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.767.257

Apresentação do Projeto:

Trata-se de estudo caso-controle prospectivo. Serão avaliados 200 indivíduos controles e 200 pacientes com Doença Inflamatória Intestinal (DII), de ambos os sexos e com idade entre 18 a 70 anos, atendidos pelo ambulatório de gastroenterologia do Ambulatório de Especialidade do Hospital Universitário (AEHU) cuja contribuição para a pesquisa será a realização de uma avaliação clínica pelo médico gastroenterologista e uma coleta de sangue. O grupo controle será composto por indivíduos avaliados em projeto de pesquisa anterior, cuja amostras já foram coletadas (CAAE: 06405812.1.0000.5231) e os testes laboratoriais já realizados. As DIIs são caracterizadas por condições inflamatórias crônicas em resposta a um desequilíbrio imunológico da mucosa intestinal, principalmente associado às células do sistema imune adaptativo que reconhecem autoantígenos. Os dois grandes exemplos destas doenças são a Retocolite Ulcerativa Idiopática (RCUI) e a Doença de Crohn (DC). A RCUI caracteriza-se por uma inflamação limitada à mucosa colônica em um processo que envolve o reto em 95% dos casos e manifesta-se principalmente com diarreia sanguinolenta associada a tenesmo e urgência fecal. Já a DC pode acometer todo o trato digestório, desde a boca até o ânus, e é caracterizada por formação de estenoses, fístulas, úlceras e granulomas na mucosa. A hipótese do presente estudo é que o polimorfismo genético (PCR, TNF-, CCR5, FOXP3) junto com os biomarcadores imunológicos e estado redox dos pacientes com DII estejam associados com a atividade da doença.

Endereço: LABESC - Sala 14

Bairro: Campus Universitário

UF: PR

Telefone: (43)3371-5455

CEP: 86.057-970

Município: LONDRINA

E-mail: cep268@uel.br

4